

**STRUKTURBERECHNUNGEN
AN
PSEUDOMUREIN UND VERGLEICH MIT MUREIN**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs Chemie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
BERND LEPS
aus Berlin

1985

STRUKTURBERECHNUNGEN

AN

PSEUDOMUREIN UND VERGLEICH MIT MUREIN

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs Chemie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

BERND LEPS

aus Berlin

Erster Bericht: Prof. Dr. Hans Bradaczek

Zweiter Bericht: Priv. Doz. Dr. habil. Harald Labischinski

Tag der mündlichen Prüfung: 10. Mai 1985

Inhaltsverzeichnis

Seite

1.	Einleitung und Problemstellung	5
2.	Bisherige Ergebnisse der Forschung an Pseudomurein	10
3.	Untersuchungen an Sacchariden	16
3.1.	Arbeitsplan	16
3.2.	Die Methode der Potentialenergieberechnung	18
3.2.1.	Eingangsdaten der Moleküle	20
3.2.1.1.	N-Acetylglucosamin	20
3.2.1.2.	N-Acetylalosaminuronsäure	22
3.2.1.3.	Sacchariddimere	23
3.2.2.	Verfahren	24
3.2.2.1.	Potentialansatz	24
3.2.2.2.	Minimierung	28
3.2.2.3.	Weitere Programme	30
3.3.	Minimierung der monomeren Saccharide	30
3.4.	Minimierung der dimeren Saccharide	34
3.4.1.	Dimere in 1,3-Verknüpfung	34
3.4.2.	N,N'-Diacetylchitobiose	42
3.5.	Bildung von Polysaccharidketten	45
4.	Ergebnisse und Diskussion	48
4.1.	N-Acetylglucosamin	48
4.1.1.	N-Acetylgruppe	48
4.1.2.	Übrige Seitengruppen	52
4.2.	Dimere des N-Acetylglucosamins	53
4.2.1.	N,N'-Diacetylchitobiose	53
4.2.2.	Bisacetylaminolaminarabiose	57
4.3.	Polymeres N-Acetylglucosamin	60
4.4.	N-Acetylalosaminuronsäure	63
4.4.1.	C1-Ringkonformation	63
4.4.1.1.	N-Acetylgruppe	63
4.4.1.2.	Übrige Seitengruppen	65
4.4.2.	1C-Ringkonformation	65
4.4.2.1.	N-Acetylgruppe	66
4.4.2.2.	Übrige Seitengruppen	69
4.5.	Dimere mit N-Acetylalosaminuronsäure-C1	72
4.5.1.	N,N'-Diacetylalosaminuronylglucosamin	72
4.5.2.	N,N'-Diacetylglucosaminylalosaminuronsäure	74
4.6.	Oligomere mit N-Acetylalosaminuronsäure-1C	80

	<u>Seite</u>
4.6.1. N,N'-Diacetylglucosaminyltalosaminuronsäure	80
4.6.2. N,N'-Diacetyltalosaminuronylglucosamin	83
4.6.3. N,N',N''-Triacetylglucosaminyltalosaminuronyl- glucosamin	89
4.7. Heteropolysaccharid mit N-Acetyltalos- aminuronsäure-C1	92
4.8. Heteropolysaccharid mit N-Acetyltalos- aminuronsäure-1C	96
4.9. Vergleich der Polysaccharide	98
5. Anhang	106
5.1. Nomenklatur	106
5.2. Mittelung von Uronsäuren	110
5.3. Helixparameter	117
6. Zusammenfassung	121
7. Literatur	124

1. Einleitung und Problemstellung

Die Taxonomen unter den Biologen zählen von den etwa 1.5 Millionen Arten an Lebewesen auf dieser Erde knapp 3000 zu den Bakterien und Blaualgen, eine verschwindend geringe Zahl, auch wenn man berücksichtigt, daß wegen der geringen Größe dieser Einzeller eine umfassende wissenschaftliche Behandlung erst seit Leeuwenhoek mit dem Einsatz optischer Hilfsmittel möglich wurde.

Die Bedeutung dieser Prokaryonten ist aber natürlich nicht durch die Zahl ihrer Arten gegeben; im Laufe ihrer Entwicklung haben sie es verstanden, sich den unterschiedlichsten Lebensbedingungen anzupassen, und so sind nur Medien, deren Umweltbedingungen das Vorhandensein von Wasser in flüssiger Form oder von Eiweiß ausschließen, von Bakterien frei. Es ist daher verständlich, daß die Untersuchung von Bakterien zunächst aus biologischen, dann aus medizinischen und hygienischen Gründen, heute auch in technischer Hinsicht, in den Naturwissenschaften einen immer breiteren Raum einnimmt.

Hierbei haben wir Menschen zunächst an den medizinisch bedeutsamen Eigenschaften ein sozusagen vitales Interesse, insbesondere, wenn die Aufgabe, unerwünschte Einzeller aus einem bestimmten System zu entfernen, dadurch kompliziert wird, daß es sich bei dem System um uns selbst handelt, und jedes vorgeschlagene Verfahren sich daher damit auseinandersetzen muß, den störenden Einzellern möglichst nachhaltig, ihren Wirten, also uns, aber möglichst wenig zu schaden.

Physikalisch gesehen stellen Zellen in einem flüssigen Medium meistens eine starke lokale Anomalie dar; in einem kleinen Raumabschnitt liegt eine hohe Konzentration an Stoffen vor, die im freien Lösungsmittel entweder gar nicht oder doch nur in starker Verdünnung anzutreffen sind. Die äußere Begrenzung einer Zelle, die Zellhülle, muß imstande sein, dieses Konzentrationsungleichgewicht ständig aufrechtzuerhalten; immerhin ist ja das Vorhandensein dieses Nichtgleichgewichtes zwischen Lebewesen und Umgebung so essentiell, daß es zur Definition des Begriffs 'Leben' selbst herangezogen worden ist.

Zu diesem Zweck müssen alle Zellen eine als semipermeable Membran

ausgebildete Zellhülle besitzen, die das Zellinnere von der Umgebung abgrenzt. Während sich bei Mehrzellern benachbarte Zellen aneinander 'abstützen' können, muß diese Hülle bei den meisten Einzellern dem nicht unerheblichen osmotischen Druck infolge des Konzentrationsgefälles allein standhalten. So gut wie alle Prokaryonten haben daher einen zusätzlichen Hüllenteil entwickelt, der die Zelle wie ein Netz umgibt und für die nötige mechanische Stabilität sorgt. Somit ist es möglich, im Angriff auf diesen Hüllenteil ein Mittel zu sehen, das die eingangs erhobene Forderung erfüllt, selektiv gegen Prokaryonten zu wirken, ohne die eukaryonten Wirtsorganismen zu schädigen.

Bei der überwältigenden Mehrheit aller Prokaryonten, nämlich bei allen Eubakterien, zu denen auch die Blaualgen gerechnet werden sollen, besteht diese stabilisierende Hülle, die soviel physiologische und medizinische Aufmerksamkeit verdient, aus Glycopeptiden, aufgebaut aus mit kurzen Peptidsträngen leitersprossenartig quervernetzten Polysaccharidsträngen.

Die große Übereinstimmung im Aufbauprinzip dieser Glycopeptide hat dazu geführt, ungeachtet der Abweichungen im chemischen Aufbau bei den einzelnen Bakterienarten die Bezeichnung Murein /1/ für diese Gruppe an Zellhüllenbestandteilen einzuführen und die Unterschiede als Varietäten dieser Substanz aufzufassen; wegen der Schwierigkeit, die an morphologischen Eigenschaften armen Bakterien taxonomisch zu gliedern, sind diese Variationen auch zur Taxonomie herangezogen worden /2,3,4/.

Wie wir seit Duguids Deutung von Flemings segensreichem Kunstfehler wissen, ist die Aufgabe, unliebsamen bakteriellen Nachbarn durch Angriff auf deren Mureinnetzwerk zu begegnen, lange bevor sich die menschliche Wissenschaft mit diesem Problem befaßte, von Mikroorganismen erfolgreich gelöst worden: Sie produzieren Penicillin, das auf durchaus noch nicht zur Zufriedenheit geklärte Weise in den Aufbau der Mureinhülle eingreift und so die Bakterienvermehrung stoppt.

Der Wunsch, eine tiefere Einsicht in den Mechanismus dieser Hemmung zu gewinnen, hat seitdem eine große Anzahl von Forschungsarbeiten auf

diesem Gebiet induziert; der Ruf nach immer gezielter wirkenden Antibiotika und die Notwendigkeit, dem Phänomen der Resistenz gegen solche Mittel durch immer neue Substanzen zu begegnen, führte dazu, daß innerhalb der Arzneimittelforschung die Entwicklung neuer Antibiotika einen breiten Raum einnimmt.

Da der Aufbau des Mureingerüsts eine enzymatisch kontrollierte biochemische Reaktion ist und enzymatische Steuerungen topochemisch ablaufen, ist eine Kenntnis über den räumlichen Aufbau des Mureinnetzwerkes und seiner Teile erstrebenswert; entsprechende Informationen sind nun aber dadurch schwer zu erlangen, daß die stärkste Waffe der Strukturforscher, die Einkristallstrukturanalyse mit Röntgen- oder Neutronenbeugung auf Murein infolge der irregulär aufgebauten Struktur nicht erfolgreich eingesetzt werden kann. Stattdessen haben Daten aus der Anwendung anderer physikalisch-chemischer Untersuchungsverfahren, die jeweils nur einzelne Aspekte der Mureinstruktur zu ermitteln in der Lage sind, zu einer Vielzahl von Modellvorstellungen über den dreidimensionalen Aufbau der Zellhülle geführt /z.B. 5-13/.

Eine zwischen den Verfechtern unterschiedlicher wissenschaftlicher Ansichten kontrovers geführte Diskussion ist offensichtlich ein sicheres Zeichen dafür, daß die bekannten Fakten nicht ausreichen, genügend Argumente für die eindeutige Bevorzugung eines der Modelle zu liefern.

Gegenwärtig kommt daher Ansätzen, mit deren Hilfe es möglich sein könnte, eine Entscheidung bezüglich der Wirklichkeitsnähe der verschiedenen Modelle zu treffen, besonderes Gewicht zu. Einer dieser Ansätze beruht auf dem Theorem, daß von unterschiedlichen Organismen unabhängig voneinander für den gleichen Zweck entwickelte Strukturen einen ähnlichen Aufbau zeigen sollten (ontogenetische Parallelentwicklung, z.B. Vogel- und Fledermausflügel oder die Flossenform von Fischen und Walen). Nun zeigen neben anderen Kriterien Analysen der Basensequenzen der Ribonukleinsäuren, daß die Mureinhüllen der meisten Prokaryonten, nämlich der Eubakterien und Blaualgen, trotz aller vorkommenden Variationen evolutionäre Spielarten einer Entwicklungsreihe sind und daher nicht als unabhängige Beispiele für den Aufbau eines Hüllengerüsts dienen

können.

Anders liegen die Verhältnisse bei einigen Gattungen von Prokaryonten, deren ribonukleinarer Aufbau sich klar von den oben erwähnten Eubakterien abhebt /14,15 /, und die deswegen taxonomisch als eigene Abteilung den übrigen Prokaryonten und den Eukaryonten gegenübergestellt worden sind. Die Vertreter dieser Gattungen sind durchweg an spezielle Umgebungen angepaßt und verfügen meist über eine ungewöhnliche Physiologie, die ihnen erlaubt, diese ökologischen Nischen mit für andere Organismen lebensfeindlichen Bedingungen zu besiedeln. Dieses Auftreten in vereinzeltten Arten in von 'höher' entwickelten Formen gemiedenen Umgebungen hat zusammen mit anderen 'urtümlichen' Eigenschaften diesen Gattungen die Bezeichnung Archebacteriales /14/ eingebracht. Ihre Zellhüllen sind, wie oben erwähnt, grundsätzlich mureinfrei und weisen stattdessen ein ganzes Spektrum von oft einzigartigen Gerüsten aus Zellulose und anderen Polysacchariden, aus nicht mureinähnlichen Glycoproteinen oder zuckerfreien Proteinen auf. Knapp zwei Dutzend Arten von ihnen gehören zu der Gruppe der Methanobacteriaceae, den methanbildenden Bakterien; taxonomisch meist Einzelgänger, wie daraus zu ersehen ist, daß diese wenigen Arten gegenwärtig in fünf Familien und neun Gattungen unterteilt werden. Diese Organismen gewinnen ihre Energie aus der Reaktion von Kohlendioxid mit elementarem Wasserstoff unter Bildung von Methan und sind daher nur unter anaeroben Bedingungen, in faulenden Sedimenten oder im Verdauungstrakt von Wiederkäuern, anzutreffen. Bei drei ihrer Gattungen, Methanobacterium, Methanobrevibacter und Methanothermus, besteht die Zellhülle aus einem Glycoprotein, das im Vernetzungsschema seiner Baueinheiten Parallelen zum Murein aufweist und wegen dieser Ähnlichkeit Pseudomurein genannt wurde /16/. Nachdem also Murein und Pseudomurein evolutionär unabhängig voneinander entwickelt worden sein dürften, aber gleichartige Lösungen für gleiche physiologische Probleme darstellen, liegt hier ein Fall von Parallelentwicklung vor, an dem, wie erwähnt, durch Vergleiche Prinzipien des Aufbaus deutlich gemacht werden könnten.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Ermittlung von Strukturmerkmalen, die für diesen Vergleich herangezogen werden

können, wobei besonderes Gewicht auf die Methode der Potentialenergieberechnung gelegt wurde, ein Verfahren, das erlaubt, auf theoretischem Wege aus der Kenntnis der chemischen Primärstruktur und einiger allgemeiner Daten über Wechselwirkungen zwischen Atomen wahrscheinliche und energiegünstige räumliche Strukturen für Moleküle vorherzusagen und so Modelle zu schaffen, die mit den Daten anderer an der Substanz selbst arbeitender Methoden korreliert werden können. Grob gesagt handelt es sich um eine Fortführung des als Methode wohl spätestens seit der Entwicklung des Doppelhelixmodells durch Watson und Crick als Verfahren anerkannten wissenschaftlichen Modellbaus mit modernen Methoden der Datenverarbeitung.

2. Bisherige Ergebnisse der Forschung an Pseudomurein

Bakterien, deren hervorstechende Besonderheit darin besteht, die lebensnotwendige Energie aus der Umsetzung von Kohlendioxid oder anderen einfachen Verbindungen mit Kohlenstoff in hohen positiven Oxidationsstufen mit Wasserstoff zu gewinnen und dabei Methan freizusetzen, sind 1956 erstmals von Barker als eine eigene Familie Methanobacteriaceae zusammengefaßt worden /17/. Diese Familie ist mit anderen, oft nur in wenigen Arten vertretenen Familien von Bakterien aus ungewöhnlichen Biotopen (z.B. heiße oder stark salzhaltige wäßrige Lösungen) in einer taxonomisch noch nicht klar definierten Gruppe von 'Archebakterien' eingegliedert worden /18/.

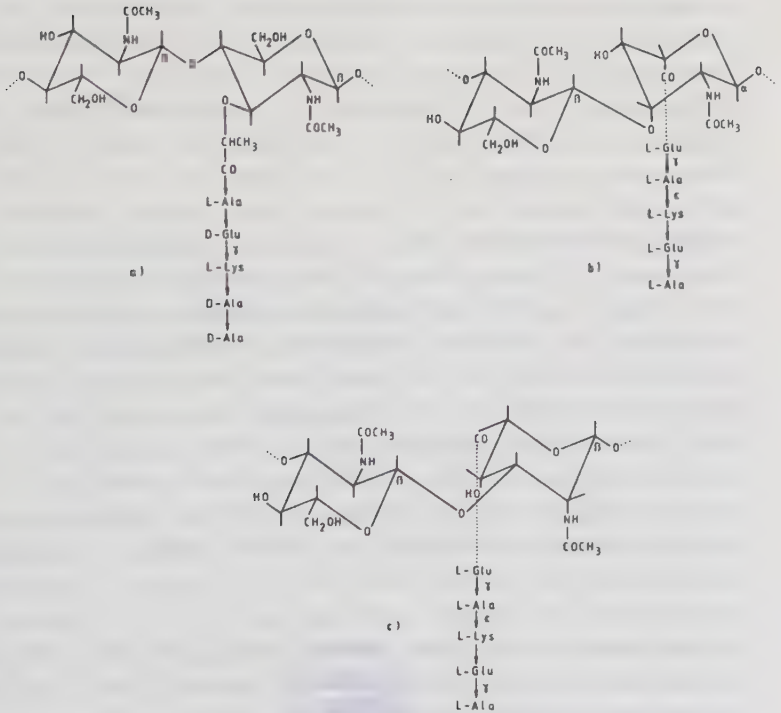
Spätere Untersuchungen der Basensequenzen der Ribonukleinsäuren /19-21/ führten zu der Annahme, daß die Archebakterien tatsächlich einen sowohl von den übrigen als Eubacteriales gegenübergestellten Prokaryonten als auch von den Eukaryonten getrennten Zweig der Evolution darstellen /14,15,20,22,23/.

Ein gemeinsames Merkmal aller Archebakterien und mit ihnen der Methanobakterien ist das völlige Fehlen des bei den Eubakterien allgegenwärtigen /2/ zellwandverstärkenden Netzwerks aus Murein /24/. Bei einigen Gattungen (*Sulfolobus*, *Thermoproteus*, *Methanococcus* und andere) treten Proteine und Glycoproteine an dessen Stelle, andere weisen Polysaccharide (*Halococcus*, *Methanosarcina*) auf oder besitzen gar keine spezielle Hüllensubstanz (*Thermoplasma*); einige schließlich, und zwar die Gattungen *Methanobacterium*, *Methanobrevibacter* und *Methanothermus*, besitzen ein Peptidoglycan, das wie Murein aus mit Oligopeptiden quervernetzten Saccharidsträngen besteht /25,26/ und daher Pseudomurein genannt wurde /16/.

Bereits in der ersten Arbeit über den Aufbau des Pseudomureins /26/ wurde auf die große morphologische Ähnlichkeit zwischen den Zellwänden von Methanobakterien und Eubakterien auf elektronenmikroskopischen Aufnahmen hingewiesen.

Abbildung 1:

Primärstrukturen von Murein a) und Pseudomurein mit N-Acetylglucosamin-
uronsäure in C1-Ringkonformation b) bzw. in 1C-Ringkonformation c)



Der Peptidteil des Pseudomureins erwies sich als nur aus L-Aminosäuren aufgebaut /26/, während Murein alternierend D- und L-Aminosäuren aufweist. Wie in Murein tritt eine Diaminosäure, meistens Lysin, obligat auf und nimmt an der Vernetzung des Peptidgerüsts mit beiden Aminogruppen teil /26/; selten (*Methanobrevibacterium ruminantium*) /26/ ist Lysin teilweise durch das in der Seitenkette um eine CH_2 -Gruppe kürzere Ornithin ersetzt.

Weiter treten auch bei Pseudomurein über die γ -ständige Carboxylgruppe in die Peptidkette eingegliedertes Glutamin oder Glutaminsäure und manchmal durch Threonin ersetztes Alanin (alle jedoch in der L-Konfiguration) auf. Die Quervernetzung erfolgt ebenso wie die Anhaftung an den Saccharidteil über Glutaminsäure /27/. Die endständige Position eines einzelnen Oligopeptids ist mit Alanin besetzt; dieses wird - wieder in Analogie zum Murein - bei der Vernetzung abgespalten /28/.

Mit diesen Angaben und der Analyse überlappender Sequenzen an Pseudomureinbruchstücken stimmt die in Abb. 1 gezeigte Struktur des Peptidteils /27/ überein. Der Variantenreichtum des Peptids ist bei den wenigen bekannten Vertretern von pseudomureintragenden Bakterien naturgemäß viel geringer als im Falle des Mureins; außer über die schon genannten ist nur noch über eine weitere Verkürzung quervernetzten Peptids um die penultima Glutaminsäure /29/ und bei *Mbr. smithii* über eine seitliche (d.h. am α -Carboxyl angreifende) Substitution mit δ -verknüpftem Ornithin berichtet worden /30/.

Im Saccharidteil ist wie in dem des Mureins N-Acetylglucosamin angetroffen worden; allerdings kann dieser Zucker in wechselnden Anteilen bis hin zum völligen Ersatz (*M. arboophilum*) durch das entsprechende Galactosamin vertreten werden /25/. Weitere in Zellwandpräparationen festgestellte Zucker (Mannose, Rhamnose, nichtaminierte Glucose und Galactose) erwiesen sich als ohne Strukturänderung mit Detergentien aus dem Verband lösbar und also nicht kovalent gebunden /25/. Muraminsäure, die im Murein die Verknüpfungsstelle zum Peptid trägt, wurde nicht gefunden und so fehlten noch Kenntnisse über die Substanz 'X' /16/, die die Glutaminsäure am Anfang der Peptidkette und die schon gefundenen Zucker des Saccharidteils verbindet. Diese Substanz stellte sich /31/

als N-Acetyltalosaminuronsäure heraus, eine bis dahin nirgendwo in Organismen angetroffene Verbindung. Während GlcNAc, (Nomenklatur s. Kapitel 5.1.), wie im Murein zur D-Reihe zählt und β -konfiguriert ist /19/, erwies sich TalANAc als zur L-Reihe gehörig /32/. Für das anomere Sauerstoffatom wurde mit NMR und Chromoxidabbau die äquatoriale Position festgestellt /33/.

Die Konfiguration von TalANAc ist damit noch nicht eindeutig bestimmt: Im Gegensatz etwa zu Glucosederivaten wie GlcNAc ändert sich die Anzahl nichtanomerer Seitengruppen in axialer und äquatorialer Position nicht beim Wechsel zwischen den beiden Ringkonformationen C_1 und $1C$ /34/. Diese beiden Konformationen sind daher in der Energie einander ähnlicher als entsprechende Ringformen bei Glucose oder Galactose.

Nach Inkrementenrechnungen /35/, die neben der Anzahl noch die Art und relative Position von Substituenten berücksichtigen, ist die L- $1C$ -Form von TalANAc begünstigt, damit läge ein β -L-Talosaminuronsäurederivat vor. Kandler et al. nahmen in ihren ersten Arbeiten zur Verknüpfung der Saccharidreste im Pseudomurein /29,33/ die α -Konfiguration an. Eine zweifelsfreie Klärung dieser Frage kann nur durch die Bestimmung der Position eines nichtanomeren Substituenten erfolgen.

Sowohl zwischen GlcNAc und TalANAc /30/ als auch zwischen TalANAc und GlcNAc /33/ liegt mit hoher Wahrscheinlichkeit eine 1-3-Verknüpfung vor. Damit wird auch der hohe und wechselnde Galactoseanteil erklärlich, da sich Glucose und Galactose nur in der an der Bindung nicht beteiligten Ringposition 4 konfiguratativ unterscheiden. Als einzige bisher bekannte Aufbauvariante ist bei *M. ruminantium*, einem Organismus, bei dem auch der Peptidteil Ausnahmen aufweist, zusätzlich Glucosamin über Phosphorsäureesterbrücken an die Saccharidstränge gebunden /25/.

Die in Abb. 1 gezeigte Primärstruktur einer Pseudomureinuntereinheit ist somit eine 'Standardstruktur', bei welcher lokale Abweichungen durchaus vorkommen. Über die chemische Zusammensetzung und die Primärstruktur hinaus ist von Pseudomurein wenig bekannt: Die Dichte (trocken 1.44 g/cm^3 bei *M. thermoautotrophicum* /36/), die Röntgenaufnahmen an Pulvern und Folien /36/ und elektronenmikroskopische Aufnahmen /25, 37/ von Pseudomurein gleichen

denen von Murein; diese Erkenntnisse unterstützen die Hypothese eines prinzipiell gleichartigen Aufbaus von Wandteilen aus Murein und Pseudomurein /38/. Methanobakterien mit pseudomureinhaltigen Wänden sind grampositiv /26/, die Wände müssen also mindestens ebenso kompakt sein wie die grampositiver Eubakterien.

In Eigenschaften, die stark von den unterschiedlichen Primärstrukturen abhängen, zeigen beide Peptidoglycane naturgemäß keine große Übereinstimmung: Antibiotika, die gegen den Aufbau des Mureinnetzwerkes gerichtet sind, sind bei Methanobacteriaceae wirkungslos bis auf einige, die an Schritten der Biosynthese von Bausteinen angreifen /39/. Die Biosynthese von Pseudomurein sollte also zumindest einige Gemeinsamkeiten aufweisen.

Gegen Pseudomurein verschiedener Methanobakterien sind monoklonale Antikörper hergestellt worden /40/, determinierend für die Erkennung ist einerseits die Umgebung der N-Acetylglucose, andererseits das γ -verknüpfte terminale Glutaminyllalanin. Da über eine nichtkristalline und wegen der Vernetzung sicher auch nichtkristallisierbare Substanz wie Pseudomurein mit der inzwischen klassischen Methode der Strukturaufklärung, der Einkristallstrukturanalyse, keine Daten zu gewinnen sind und andere Methoden nur Teilaussagen zu Eigenschaften der Struktur machen können, sieht sich der Forscher hier wie auch beim Murein in die Position der sprichwörtlichen indischen Blinden bei der Untersuchung des Elefanten versetzt: Je nachdem, ob zufällig die Ohren, Stoßzähne, Beine oder die Schwanzquaste Gegenstand der Untersuchung war, beschrieben sie einen Elefanten als weich oder lappig, hart oder glatt, rauh und massiv oder behaart. Offensichtlich ist es sowohl bei der taktilen Untersuchung von Elefanten als auch bei der Strukturaufklärung von Peptidoglycanen wichtig, frühzeitig ein Modell des Gesamtaufbaus vor Augen zu haben, um die Teilergebnisse einzelner Methoden interpretieren zu können.

Für einen nicht quervernetzten Peptidstrang im Pseudomurein existiert bereits ein Strukturvorschlag /36,41/ als Ergebnis einer Untersuchung mit ähnlichen Methoden wie in der vorliegenden Arbeit. Danach nimmt der Peptidteil die Form eines Ringes ein, der von einigen Wasserstoffbrücken zusammengehalten wird. Sonst übliche Peptidstrukturen wie Helices oder Faltblattstrukturen können infolge

der vielen nicht- α -Verknüpfungen nicht energiegunstig gebildet werden. Für den Peptidteil des Mureins existiert ein sehr ähnlicher Strukturvorschlag /38,42/. Die vorliegende Arbeit enthält eine Untersuchung über den Saccharidteil des Pseudomureins. Teile dieser Untersuchung sind bereits vorveröffentlicht worden /43,44/.

3. Untersuchungen an Sacchariden

3.1. Arbeitsplan

Aus dem Vorstehenden wurde folgender grundsätzlicher Arbeitsplan für die Ermittlung energiegunstiger Konformationen für ein Polysaccharid abgeleitet:

1. Für jeden am Polymer beteiligten Zucker wird ein Monomermodell aufgestellt. Die geometrischen Parameter (Bindungslängen, Bindungswinkel und Torsionswinkel) entstammen Mittelungen über eine möglichst große Anzahl von mit Röntgenbeugung vermessenen Verbindungen vergleichbarer Struktur, die Partialladungen werden mit dem CNDO-Verfahren bestimmt.

2. Eine Reihe von Torsionswinkeln wird als Variablenmenge für die nachfolgende Minimierung ausgezeichnet. Diese Variablen spannen den Konformationsraum des Monomers auf. In diesen Konformationsraum werden mindestens so viele Startpunkte festgelegt, daß jedes denkbare lokale Minimum von einem Startpunkt ohne Überschreiten einer größeren Potentialbarriere erreichbar ist. Im Einzelnen bedeutet dies, daß jedes Konformer bezüglich der Drehung um Einfachbindungen mit variablem Torsionswinkel im Startsatz vertreten sein muß.

3. Ausgehend von diesen Startätzen wird eine Energieminimierung durchgeführt. Die erhaltene Liste der Minima wird nach steigender Energie sortiert; Doubletten (durch Erreichen des gleichen Zielpunktes von verschiedenen Startpunkten aus) werden aussortiert.

Ein einzelnes Molekül eines Zuckermonomers ist jetzt im Rahmen der Methode vollständig behandelt.

4. Durch Überlagern entsprechender Sauerstoffatome unter Berücksichtigung von Bindungslängen und -winkeln und Entfernen der anhängenden Wasserstoffatome werden Modelle der im Polysaccharid vorkommenden Dimere hergestellt. Da diese Moleküle eine für das CNDO-Programm /51/ zu große Atomanzahl haben, werden die Partialladungen aus denen der Monomere abgeleitet.

5. Die Form der Rotationspotentialkurven für die beiden Torsionswinkel einer glykosidischen Bindung zwischen zwei Saccharidresiduen, ϕ und ψ , ist schon wegen der starken gegenseitigen Abhängigkeit nicht von vornherein bekannt. Um einen Satz von Startpunkten zu bilden, der die in 2. angegebene Bedingung erfüllt, werden mit vereinfachten Dimermodellen Ramachandranplots dieser beiden Winkel, d.h. graphische Darstellungen des zweidimensionalen

Konformationsraumes näherungsweise bestimmt. Die dort gefundenen lokalen Minima werden in den Startsatz übernommen.

6. Für Torsionswinkel, die die Lage von der glykosidischen Bindung benachbarter Seitengruppen bestimmen, wird unter Berücksichtigung der bei der Monomerminimierung gefundenen Minima ein Startsatz nach den Kriterien von 2. aufgestellt. Für die relative Lage zweier benachbarter Saccharide irrelevante Gruppen werden zwar mit variablem Torsionswinkel, aber nur mit einem Startwert (dem im Monomer gefundenen Minima) berücksichtigt.

7. Ausgehend von den nach 5. und 6. bestimmten Startätzen werden Dimerminima berechnet. Entsprechend der Wahl der Startätze sind die gefundenen Minima repräsentativ für die möglichen relativen Lagen der beiden Saccharidresiduen, aber nicht notwendig repräsentativ für alle im Dimer vorkommenden Seitengruppen. Dies ist für die Bestimmung von Oligomeren nicht von Belang:

8. Wenn aus je zwei so bestimmten Dimerkonformationen durch Koinzidieren eines Zuckerringes Trimere gebildet werden, kann für die jeweils dem einen oder dem anderen zugewandte Hälfte des mittleren Saccharids eine der in 7. bestimmten Konformationen angenommen werden. Die Konformationen der in 6. und 7. nur cursorisch behandelten von einer glykosidischen Bindung entfernt sitzenden Seitengruppen werden dabei jeweils durch die nächste glykosidische Bindung bestimmt. Nach diesem Verfahren können auch lange Oligomere gebildet werden. Auf diese Weise sind zumindest die relativen Lagen der Zuckerringe in einem Oligomer ermittelt. Falls dies notwendig erschien, wurden die Konformationen einer wichtigen Seitengruppe durch Nachminimierung eines Trimers mit dieser Seitengruppe am mittleren Ring genauer bestimmt.

9. Zur Klassifizierung der so erhaltenen Konformationen der Saccharidoligomere wurden die Parameter derjenigen Helices bestimmt, die unter der Voraussetzung gleicher Konformation von gleichartigen glycosidischen Bindungen von den Zuckersträngen gebildet werden. Der Wert dieser Größe liegt in der leichteren Klassifizierung der Möglichkeiten, die einem Saccharidstrang zur Verfügung stehen; in natürlichen nichtkristallinen Peptidoglycanen dürfte keine reguläre periodische Struktur über einen längeren Kettenabschnitt eingehalten

werden.

3.2. Die Methode der Potentialenergieberechnung

Wie für jedes Wissensgebiet ist es auch für die Chemie nicht möglich, eine exakte, umfassende Definition ihres Arbeitsfeldes zu geben. Im Selbstverständnis wohl der meisten Chemiker sind chemische Phänomene solche, die sich auf die Wechselwirkung zwischen Atomen und Atomverbänden zurückführen lassen. Dieses Konzept ist philosophisch sehr alt /45/, in der Naturwissenschaft als Modell dagegen noch nicht allzulange in Gebrauch /46/.

Im Rahmen dieser Arbeit ist wichtig, daß zur begrifflichen Erfassung solcher Wechselwirkungen Vorstellungen über die relative räumliche Lage der beteiligten Atome unumgänglich sind.

Parallel zum Atombegriff wurde der Begriff einer chemischen Bindung entwickelt. Auch hier ging der Weg von der rein mathematischen 'Proportion' über die abstrakte 'Valenz' eines chemischen 'Radikals' zu topologischen Modellen /47/, die - als 'Strichformel' - auch heutzutage in allen Teilen der Chemie häufig angewendet werden. Fügt man das oben erwähnte dreidimensionale räumliche Molekülkonzept hinzu, entsteht das 'Haken- und Ösen'-Modell /48/, das immerhin schon mit Chiralität oder sonstigen Stereoisomerien zusammenhängende Probleme zu bearbeiten gestattet.

Die Erweiterung dieser Anschauung von dreidimensional mit gerichteten Bindungen zum Molekül verketteten Atomen zum quantitativen Modell kann auf zwei Arten erfolgen, die dem Naturwissenschaftler grundsätzlich zur Verfügung stehen. Nach der deduktiven, theoretisierenden Methode muß eine physikalische Theorie der Bindung erarbeitet werden, die Eigenschaften von Molekülen können dann hieraus abgeleitet werden. Dieser Weg, der am klarsten in 'ab initio'-Ansätzen /49/ zutage tritt, hat seine Grundlagen in der Quantenmechanik.

Eine konsequente Anwendung quantenmechanischer Methoden würde zwar schnell zu exakten Aussagen über jedes gewünschte Molekül führen, verbietet sich aber leider aus mathematischen Gründen; nur für einfachste, nur ein Elektron - enthaltende Moleküle kann eine

geschlossene analytische Lösung angegeben werden; für größere Moleküle sind immerhin numerische Näherungen möglich, der Aufwand zu ihrer Ermittlung steigt aber mit der Molekülgröße und der gewünschten Genauigkeit rasch an. Auch mit modernen Großrechenanlagen sind derzeit Moleküle mit mehr als wenigen Dutzend Atomen praktisch nicht berechenbar /50/.

Der zweite mögliche Weg, die induktive Methode, beruht auf empirischen Anschauungen. Es werden aus Untersuchungen von Beispielmolekülen die Eigenschaften einer 'normalen' Bindung deskriptiv festgelegt. Weiterhin werden, meist auf der Grundlage Newtonscher Mechanik, Parameter für den Energieaufwand ermittelt, der nötig ist, um die 'normalen' Werte für die Eigenschaften einer Bindung zu verändern. Vorausgesetzt, dieser Satz von Parametern ist auf das betrachtete Molekül anwendbar, ist dann seine wahrscheinliche Struktur nach dem Prinzip von Le Chatelier und Braun ermittelbar, das heißt also, die niedrigstenergetische mögliche Struktur wird als wahrscheinlichste angegeben. Auch hier steigt die Genauigkeit der erhaltenen Aussagen mit dem betriebenen Aufwand, dieser liegt aber um Größenordnungen unter dem für quantenmechanische Rechnungen. Damit sind empirische Methoden die einzigen zur Zeit verfügbaren für die theoretische quantitative Behandlung größerer Moleküle. Der Gefahr unrichtiger Aussagen muß dabei durch Verwendung von der unbekannten Verbindung möglichst ähnlichen Modellverbindungen begegnet werden. Außerdem muß die entwickelte Strukturannahme natürlich mit experimentell ermittelten Daten (Dichte, strukturelevante Banden im IR- oder NMR-Spektrum und dergleichen) konform gehen.

Es hat nicht an Versuchen gefehlt, die höhere Rechengeschwindigkeit empirischer Methoden mit der höheren theoretischen Absicherung quantenmechanischer Methoden zu verbinden. Soweit das Schwergewicht dieser semiempirischen Methoden auf der quantenmechanischen Seite liegt, ist der Rechenaufwand allerdings immer noch sehr hoch, wenn auch niedriger als bei reinen ab-initio-Verfahren /50/. In der vorliegenden Arbeit wurde daher in Anbetracht der Größe der zu bearbeitenden Moleküle ein empirischer Ansatz angewendet. Die als Parameter eingehende Ladungsverteilung im Molekül ist nach Möglichkeit mit einem semiempirischen Verfahren (CNDO /51/) ermittelt worden.

3.2.1. Eingangsdaten der Moleküle

3.2.1.1. N-Acetylglucosamin

Für Derivate von Hexopyranosen liegt bereits eine Arbeit vor /52/, in der gezeigt wurde, daß die Pyranoseringe verschiedener Zucker ähnlich genug sind, um die Mittelung zu einem 'Standardring' zu rechtfertigen. Dieser Standardring ist in anderen Arbeiten über N-Acetylglucosamin verwendet worden /53-57/ und liegt auch den Berechnungen dieser Arbeit zugrunde.

Die Geometrie der N-Acetylgruppe an Position C(2) wurde von Momany et al. /58/ übernommen. Die Partialladungen wurden mit Hilfe des Programms CINMIN (QCPE 398) /51/ berechnet, ein Programm, das den semiempirischen CNDO/2-Ansatz verwendet. Sie sind in Tabelle 1b) angeführt.

Tabelle 1

Parameter für die Berechnung der Konformationsenergie in Monosacchariden

a) Torsionsenergieparameter /58/ (vgl. Kapitel 3.2.2.1.)

Bindung	$E^{\circ}/2$ (kJ/Mol)	Formel (χ :Torsionswinkel)
C - OH	1.254	$E = E^{\circ}/2 (1+\cos(3 \chi))$
C - OC	1.254	$E = E^{\circ}/2 (1+\cos(3 \chi))$
C - N	1.254	$E = E^{\circ}/2 (1+\cos(3 \chi))$
C - COO	0.418	$E = E^{\circ}/2 (1+\cos(6 \chi))$
C - CH ₂ O	5.852	$E = E^{\circ}/2 (1+\cos(3 \chi))$
OC - OH	16.72	$E = E^{\circ}/2 (1-\cos(2 \chi))$

b) Partialladungen in Bruchteilen einer Elektronenladung

	GlcNAc	TalANAc-C1	TalANAc-1C
C(1)	0.275	0.260	0.307
C(2)	-0.002	0.072	0.079
C(3)	0.129	0.131	0.138
C(4)	0.122	0.136	0.136
C(5)	0.132	0.072	0.067
C(6)	0.144	0.404	0.403
O(1)	-0.263	-0.262	-0.292
N(2)	-0.204	-0.205	-0.198
O(3)	-0.260	-0.245	-0.256
O(4)	-0.255	-0.272	-0.268
O(5)	-0.251	-0.250	-0.220
O(6)	-0.245		
O(61)		-0.248	-0.248
O(62)		-0.334	-0.329
C(7)	0.369	0.367	0.366
O(7)	-0.378	-0.364	-0.360
C(8)	-0.091	-0.091	-0.092
H an O	0.133	0.156	0.165
H(1)	-0.009	0.034	-0.050
H an C	-0.003	-0.006	-0.013
H(20)	0.115	0.111	0.121

3.2.1.2. N-Acetyltalosaminuronsäure

Strukturdaten über Talosuronsäure oder ihre Derivate liegen bisher in der Literatur nicht vor. Um Werte für die Geometrie dieses Moleküls zu erhalten, wurden daher die aus der Literatur (vornehmlich dem Cambridge Crystallographic Datafile /59/) bekannten Daten von Pyranosuronsäuren gemittelt. Für die Einzelheiten der Mittelung siehe Kapitel 5.2. im Anhang. Es stellt sich heraus, daß die Ringparameter einer 'gemittelten Uronsäure' sich wenig genug von denen des vorerwähnten Standardpyranoserings /52/ unterscheiden, um dessen Verwendung auch für N-Acetyltalosaminuronsäure zu rechtfertigen.

Pyranosonsäuren unterscheiden sich in der Lage der COOH-Gruppe relativ zum Ring bis auf eine geminale Hydroxylgruppe nicht von Pyranosuronsäuren. Die Parameter dieser Carboxylgruppen, die sich erwartungsgemäß wenig von denen der Carboxylgruppen in Uronsäuren unterscheiden, wurden für die Ermittlung der Carboxylgeometrie mit herangezogen.

Aus diesen Daten wurden zwei Modelle von N-Acetyltalosaminuronsäure in den beiden Ringkonformationen C1 und 1C hergestellt und für beide die Partialladungen mit CINMIN berechnet (s. Tabelle 1b).

3.2.1.3. Sacchariddimere

- Für die verwendete Nomenklatur siehe Kapitel 5.1. -

Dimermodelle wurden aus den Monomermodellen durch Decken von O(1) des nichtreduzierenden Monosaccharids mit dem Sauerstoff der Verknüpfungsstelle des reduzierenden Saccharids mit einem glykosidischen Winkel von 116.5° hergestellt, ein Winkelwert, mit dem auch in anderen vergleichbaren Untersuchungen /52,53,60-62/ gearbeitet wurde.

Da Disaccharide für die verwendete Version des Programms CINMIN zu groß sind, wurden die Partialladungen aus denen der Monosaccharide nach folgendem Verfahren abgeleitet: Die Ladungen aller nachstehend nicht genannten Atome werden unverändert aus den Monomeren übernommen. Die Ladungen der vier Sauerstoffatome am anomeren Kohlenstoff C(1), also O(1), O(5) in beiden Monomeren, werden gemittelt und für O(5') und O(1') verwendet. Ebenso wird mit den Ladungen der beiden anomeren C der Monomeren (liefert C(1')) und mit denen der beiden C(3) (liefert C(3')) des Dimers), bzw. C(4) im Falle von 1,4-verknüpften Disacchariden, verfahren.

Tatsächlich sind die dabei eintretenden Ladungsveränderungen nicht signifikant, da die durchschnittliche Ladung von allen Sauerstoffen in den Zuckern vermehrt um die doppelte durchschnittliche Ladung aller sauerstoffständigen Wasserstoffe nahe bei Null liegt, d.h. das formal bei der Dimerbildung aus den Monomeren abgespaltene Wassermolekül hat durchschnittlich keine Ladung 'entführt'. Abschließend wurden die beiden Wasserstoffatome am C(1') und C(3) so mit Ladung versehen, daß die Summe aller Ladungen im Disaccharid Null wird.

Sind im Laufe der Untersuchungen vereinfachte Dimermodelle verwendet worden, denen einige Atome der Seitengruppen fehlen, wurden die Ladungen dieser Atome auf das jeweils nächste im Molekülmodell verbliebene Atom der Seitenkette aufgeschlagen, um das gesamte Molekül ladungsneutral zu halten.

3.2.2. Verfahren

3.2.2.1. Potentialansatz

Die Grundlage für die in dieser Arbeit verwendeten Potentialenergieberechnungen bildet ein Ansatz der Autoren des Programmes ECEPP (Empirical Conformational Energy Program for Peptides) /58,63/. Hiernach kann die Energie eines Moleküls als Summe über die Energien der Wechselwirkung zwischen allen Paaren aus je zwei nicht aneinander direkt gebundenen Atomen dargestellt werden. Diese Paarwechselwirkungen wiederum werden als aus den im Folgenden aufgeführten vier Anteilen aufgebaut angesehen. Zu bemerken ist hierbei, daß nur Einflüsse auf den Energieinhalt des Moleküls, die durch Drehungen um Bindungen variieren, berücksichtigt werden. Daher ist wohl die Energiedifferenz zwischen verschiedenen Konformeren einer Verbindung bestimmbar, der Vergleich unterschiedlicher Verbindungen bezüglich der Energie ist allerdings nicht möglich. Die vier Anteile sind:

1. Elektrostatische Wechselwirkung.

Durch Integration des Coulombschen Gesetzes folgt für die Energie E_q zwischen zwei Ladungen q_1 und q_2 im Abstand r_{12}

$$E_q = C \cdot q_1 \cdot q_2 \cdot r_{12}^{-1}$$

Der Faktor C enthält neben Naturkonstanten die Dielektrizitätskonstante des Mediums. Sie wird für das vorliegende Problem auf den Wert 2 festgesetzt /58/.

2. Allgemeine Wechselwirkung zwischen nicht aneinander gebundenen Atomen.

Neben der Wechselwirkung infolge atomarer Partialladungen bestehen zwischen Atomen, die nicht aneinander gebunden sind, anziehende und abstoßende Kräfte. Die Anziehung wird durch die Wechselwirkung der

nur im zeitlichen Mittel, nicht jedoch statisch verschwindenden Dipolmomente der Atome erklärt /64/, dementsprechend wird die potentielle Energie der Anziehung E_{an} zwischen zwei Atomen des Abstandes r_{12} durch den Ansatz

$$E_{an} = -C_1 r_{12}^{-6}$$

beschrieben. Die Abstoßung, die eine viel geringere effektive Reichweite hat, wird durch den Energieanstieg bei der Durchdringung besetzter Orbitale erklärt. Für die Beschreibung der entsprechenden Abstoßungsenergie E_{ab} als Funktion des Atomabstandes r_{12} sind eine Reihe von numerischen Näherungen bekannt /64/; in der vorliegenden Arbeit wurde aus Gründen leichter Berechenbarkeit ein Lennard-Jones-Potential

$$E_{ab} = C_2 r_{12}^{-12}$$

verwendet. Die beiden Faktoren C_1 und C_2 sind jeweils für ein Paar von Atomtypen bestimmt; sie werden zweckmäßig durch Anpassung an durch Strukturanalyse, Schwingungsspektroskopie und thermodynamische Untersuchungen ermittelte Eigenschaften der Bindungen in Modellsubstanzen gewonnen. Hierfür kann der oben in r_{12} als Variable gegebene Ausdruck für die Energie Allgemeiner Wechselwirkung E_{aw}

$$E_{aw} = E_{ab} + E_{an} = C_2 r_{12}^{-12} - C_1 r_{12}^{-6}$$

in einem Ausdruck mit dem Verhältnis r_{12}^0 / r_{12} als Variable überführt werden, wobei r_{12}^0 der experimentell bestimmbare Abstand minimaler Energie zwischen den Atomtypen 1 und 2 ist:

$$E_{aw} = C_2 (r_{12}^0 / r_{12})^{12} - C_1 (r_{12}^0 / r_{12})^6$$

C_1' und C_2' hängen dann auf einfache Weise mit dem Absolutbetrag der Energie im Minimum zusammen:

$$E^0 = |E(r_{12}^0)| = 0.25C_1^2/C_2$$

$$C_2' = E^0, \quad C_1' = 2E^0$$

Bemerkenswert ist, daß C_2 außer von den Eigenschaften der beiden beteiligten Atome auch noch von der Anzahl der Bindungen zwischen ihnen abhängt: Liegen zwischen Atom 1 und Atom 2 höchstens drei Bindungen, ist die Abstoßung deutlich kleiner als bei einer größeren Anzahl zwischengeschalteter Bindungen /58/, was durch die Effekte der Überlappung von Atomorbitalen bei infolge der Bindungen stark eingeschränkter relativer Beweglichkeit erklärt wird. Im vorliegenden Problem trifft diese Besonderheit nur für den Fall von genau drei zwischenliegenden Bindungen zu, da bei weniger Bindungen (und dem hier immer vorausgesetzten in Bindungslängen und Bindungswinkeln starren Gerüst) der Abstand der beiden Atome und mithin die Wechselwirkungsenergie konstant ist und daher im Konzept der Betrachtung von Energieinkrementen nicht berücksichtigt zu werden braucht.

3. Torsionsenergie

Wird die Wechselwirkungsenergie E_{aw} in Abhängigkeit von der Drehung um eine zwischen den beiden betrachteten Atomen liegende Bindung untersucht, sollte die Rotationsbarriere infolge der Pitzerspannung gleich der Differenz zwischen dem Maximum und dem Minimum von E_{aw} innerhalb einer Umdrehung sein. Tatsächlich sind die experimentell bestimmbaren Barrieren höher als die sich aus der Rechnung ergebenden. Die Barrieren werden daher durch ein explizit torsionswinkelabhängiges Potential E_{tors} erhöht und an die experimentell bestimmbaren Werte angepaßt. Für den Ansatz wird vereinfachend angenommen, daß die an den beiden die betrachtete Bindung bildenden Atomen sitzenden Substituenten untereinander sterisch gleichwertig sind und den Vollkreis einer Umdrehung gleichmäßig in x Teile teilen. Für die Bindung kann dann eine Rotationssymmetriezahl n als kleinstes gemeinsames Vielfaches der

beiden x der bindingsbestimmenden Atome angenommen werden, die die Anzahl der Perioden von E_{tors} pro Vollwinkel angibt. Für normale sp^x -Hybride ist x gerade gleich dem p -Anteil des Hybrids, für an beiden Enden gleichartig substituierte Bindungen ist n wiederum gleich x .

Für E_{tors} kann somit der Ansatz

$$E_{\text{tors}} = 0.5 E (1 + \cos n x)$$

verwendet werden, wobei E die Differenz zwischen Maximum und Minimum von E_{tors} darstellt. Ist der Torsionswinkel x gleich Null, nimmt E_{tors} ein Maximum ein; soll, etwa bei Bindungen mit Doppelbindungscharakter wie der Peptidbindung der N-Acetylgruppen, $x=0$ ein Minimum markieren, ändert sich das Vorzeichen des Cosinus. E kann experimentell oder mit quantenmechanischen Methoden bestimmt werden (Tabelle 1a).

4. Wasserstoffbrücken

Liegt eine Wechselwirkung zwischen einem an ein stark elektronegatives Atom gebundenen Wasserstoff und einem weiteren elektronegativen Atom vor, wird E_{aw} von 2. durch ein spezielles Wasserstoffbrückenpotential E_h ersetzt, um den hier vorliegenden besonderen Verhältnissen zu entsprechen. Als Potentialfunktion ist aus rechentechnischen Gründen ein dem E_{aw} möglichst ähnliches Potential vom Lenard-Jones-Typ verwendet worden:

$$E_h = C_2 r_{12}^{-10} - C_1 r_{12}^{-6} \quad \text{oder}$$

$$E_h = C_2' (r_{12}^0/r_{12})^{10} - C_1' (r_{12}^0/r_{12})^6$$

mit einem Zusammenhang wie bei E_{aw} :

$$E^0 = |E(r_{12}^0)| = 0.048 \sqrt{15} C_1^{2.5} C_2^{1.5}$$

$$C_2' = 1.5 E^0 \quad ; \quad C_1' = 2.5 E^0$$

Die Parameter für diese Potentialansätze sind von den Autoren des Programmes ECEPP ursprünglich für Aminosäuren bestimmt worden /53,58/, sind aber mit nur geringen Modifikationen für die Berechnung von Sacchariden verwendbar /58,63,65/.

Die Gesamtenergie einer Molekülkonformation (ohne konstante Anteile) ergibt sich als Summe über alle mindestens drei Bindungen auseinanderliegenden Atompaare ik aller vier Einzelpotentiale, wobei jeweils entweder E_{aw} oder E_h anzusetzen ist:

$$E_{\text{gesamt}} = \sum_{ik} E_q + E_{aw} + E_{\text{tors}} + E_h$$

3.2.2.2. Minimierung

Das im vorigen Kapitel beschriebene Potential ist, mit Ausnahme des Torsionsanteils, nicht explizit torsionswinkelabhängig. Nachdem Bindungsabstände und Bindungswinkel in der vorliegenden Arbeit als konstant angesehen werden /64/, ist die Beschreibung der verschiedenen Konformationen eines Moleküls über Torsionswinkel möglich und auch die von einer Startstruktur zu einer Konformation mit lokalem Energieminimum führende Minimierungsprozedur sollte Torsionswinkel als Variable verwenden. Zwar können mit linearen Transformationen sowohl die den meisten Potentialteilen bestens angemessene Pattersondarstellung (mit Atomabständen als Parameter) als auch die Darstellung mit internen Koordinaten (mit Bindungslängen, -winkeln und Torsionswinkeln als Parameter) in eine cartesische Darstellung der Atomorte und somit auch ineinander umgerechnet werden, - eine Aufgabe, die wie alle sonstigen mit der Minimierung zusammenhängenden Problemen vom Programm CPECM /66/ erledigt wird -, die Energie als Funktion der Torsionswinkel ist aber eine komplizierte Funktion, deren Minima nicht analytisch bestimmbar sind, zumal bei einem Molekül mit a Atomen, von denen e einbindig sind, c Ringen und k zu mehreren Ringen gehörenden Bindungen $a - e - 2c - 1 + k$ unabhängige Torsionswinkel vorliegen. Durch Annahme von rigiden Ringen und fixierten Peptidbindungen fallen

im vorliegenden Fall einige als Variablen weg; dennoch ist das Problem der Minimierung umfangreich genug, um mit vertretbarem Aufwand nur durch Suchstrategien lösbar zu sein, die unter Verzicht auf jede Berechnung von Ableitungen Minima finden. Im Programm CPECM findet eine auf dem Powell-Algorithmus /67/ basierende Routine Anwendung. Hierzu kann jede mögliche durch Werte für die t variablen Torsionswinkel festgelegte Konformation eines Moleküls als Punkt eines t -dimensionalen Konformationsraumes dargestellt werden. Wenn, wie in den meisten Fällen die Drehung um eine Bindung zu drei Rotameren führt (s. 3.2.2.1. Punkt 3), stellen $3t$ der Punkte des Konformationsraumes lokale Minima dar. Bei dem Verfahren nach Powell werden ausgehend von einem Startpunkt durch lineare Suche in t zueinander orthogonale Richtungen die jeweils nächsten lokalen eindimensionalen Minima (also im allgemeinen Sattelpunkte der Energie) bestimmt und durch Iteration mit zyklischer Vertauschung der Reihenfolge in der Bearbeitung der Variablen aus diesen ein dem Startpunkt nahes lokales Minimum in allen Variablen aufgefunden. Es ist bei einem derartigen Verfahren nötig, Sicherungen gegen unerwünschte Effekte bei Gebieten des Konformationsraumes mit geringem Gefälle oder flachen lokalen Minima der Energie zu vermeiden. Dennoch sichert dieses Verfahren keinesfalls das Auffinden des globalen Minimums. Eine große Wahrscheinlichkeit für das Auffinden einer größeren Anzahl relevanter Minima, deren bestes eine gute Näherung für das theoretische globale Minimum ist, kann nur erreicht werden, wenn eine möglichst große Anzahl von Startpunkten so im Konformationsraum verteilt wird, daß kein Gebiet mit vermutetem lokalen Minimum von allen Startpunkten durch hohe energetische Barrieren abgegrenzt wird; im vorliegenden Problem bedeutet dies, daß jede Kombination von Rotameren der betrachteten Torsionswinkel im Startsatz vertreten sein sollte, um so den oben erwähnten etwa $3t$ vermuteten lokalen Minima ebensoviele Startwerte an die Seite zu stellen. Bei großem t steigt der Rechenaufwand aber derartig, daß Strategien wie die im Kapitel 3.1. beschriebene angewendet werden müssen, um den Aufwand vertretbar zu machen. Für die Kombination von Startpunkten aus Listen von Rotameren und für die automatische Bearbeitung von großen Datenmengen, die dadurch anfallen, enthält das Programm CPECM /66/ Hilfsroutinen.

Weiterhin sind mit diesem Programm die Ramachandranmaps (Abbildungen 2,3,5,7,8,11) erstellt worden.

3.2.2.3. Weitere Programme

Abbildungen von Molekülen (wie Abbildungen 9-16) sind mit Hilfe einer vom Verfasser modifizierten Version des Programms SCHAKAL /68/ erstellt worden. In dieses Programm sind Routinen für das Auffinden der besten Ansicht eines Moleküls (durch Koinzidieren der Zeichenebene mit der Ebene senkrecht zur Achse des größten Trägheitsmomentes und Nachminimierung der Ansichtsrichtung zur Vermeidung von sich bei dieser Projektion aus Symmetriegründen gegenseitig verdeckender Atome) und zur Darstellung von mehreren Molekülen in einem Bild (wie etwa Abbildung 13) für Vergleiche von Struktureinheiten eingefügt worden.

Für die Berechnung der Parameter einer regelmäßigen Helix ausgehend von den relativen Koordinaten (Atomabstände, Winkel und Torsionswinkel) einer helicalen Einheit oder den cartesischen Koordinaten von vier auf der Helix liegenden symmetrieverwandten Punkten wurden Programme geschrieben, deren Algorithmus (im ersten Fall) auf den Ausführungen von Shimanouchi und Mizushima /69/ und Miyazawa /70/ beruht. Alle Rechnungen wurden auf den Rechenanlagen des Instituts für Kristallographie der FU Berlin (VAX 11-750), der Zentraleinrichtung Datenverarbeitung der FU Berlin (CDC CYBER 170-835) und des Wissenschaftlichen Rechenzentrums Berlin (CDC CYBER 175) ausgeführt.

3.3. Minimierung der monomeren Saccharide

Als Variablen für die Energieminimierung des N-Acetylglucosamins wurden die sechs Seitenkettentorsionswinkel χ (1-6) (Tabelle 18) angenommen. Die Startwertsätze für die einzelnen Winkel wurden so gewählt, daß die Ergebnisse anderer Arbeiten am gleichen Molekül /53-56/ kompiliert und um soviel Werte erweitert wurden, daß jedes der drei bei Drehung um die entsprechende Einfachbindung möglichen

Rotamere durch mindestens einen Winkelwert vertreten war (Tabelle 2). Die Kombination dieser Sätze für die einzelnen Winkel liefert insgesamt 2160 Startsätze für das Molekül. 327 der gefundenen Minima wiesen eine Energie von weniger als 21 kJ/Mol relativ zum besten gefundenen Minimum auf, doch ergeben sich viele dieser lokalen Minima durch Kombination von relativ wenigen Einstellungen einzelner Torsionswinkel untereinander. Tabelle 3 zeigt neben den energieniedrigsten gefundenen Kombinationen solche, in denen ein bestimmter Winkelwert jeweils in einer Anordnung ansteigender Energie erstmalig auftrat.

Die Minimierung der N-Acetylalosaminuronsäure in C1- und in 1C-Konformation wurde prinzipiell ebenso durchgeführt. Tabelle 2 zeigt auch für diese Moleküle die Torsionswinkelwerte der je 486 Startsätze. 22 der gefundenen Minima der C1-Form und 82 der gefundenen Minima der 1C-Form weisen eine Energie von weniger als 21 kJ/Mol relativ zum besten gefundenen Minimum auf und sind in den Tabellen 7 und 8 in gleicher Weise wie N-Acetylglucosamin aufgelistet.

Tabelle 2

Startwerte der Torsionswinkel für die Minimierung von
Sacchariden (für Symbole vgl. Tabelle 18).

	GlcNAc	TalANAc1	TalANAc1C
$\chi(1)$	-65°, -35°, 39°, 140°	-30°, 30°, 180°	30°, -30°, 180°
$\chi(2)$	-61°, 90°, 130°	-60°, 120°, 160°	-60°, 90°, 160°
$\chi(3)$	-145°, -60°, 65°, 110°, 175°	-60°, 90°, 130°	-60°, 70°, 180°
$\chi(4)$	-165°, -90°, -65°, 60°	-160°, 60°, 60°	30°, -70°, 180°
$\chi(5)$	-57°, 56°, 180°	-150°, 90°, 150°	-80°, 50°, 180°
$\chi(6)$	-178°, -60°, 55°	0°, 180°	0°, 180°

GlcNAc-1,3-GlcNAc

ϕ, ψ	-130°, 90°	-110°, 80°	-100°, 70°
	-70°, 130°	-60°, -30°	40°, 130°
$\chi(2)$	-60°, 90°, 160°		
$\chi(2')$	-60°, 90°, 160°		
$\chi(4')$	-99°, -65°, 65°, 180°		

TalANAc1-1,3-GlcNAc

ϕ, ψ	-130°, 90°	-110°, 80°	-100°, 70°
	-70°, 130°	-60°, -30°	40°, 130°
$\chi(2)$	-60°, 90°, 160°		
$\chi(2')$	-60°, 90°, 160°		
$\chi(4')$	-99°, -65°, 65°, 180°		

GlcNAc-1,3-TalANAc1

ϕ, ψ	-140°, -140°	-70°, -110°
	40°, -110°	90°, -70°
$\chi(2)$	-60°, 90°, 160°	
$\chi(2')$	-60°, 90°, 160°	
$\chi(4')$	-170°, -70°, 60°, 85°	

GlcNAc-1,4-GlcNAc

ϕ, ψ	-110°, -160°	-95°, -170°	-65°, -125°	40°, -115°
$\chi(2)$	-60°, 90°, 160°			
$\chi(3')$	-104,5°, -62°, 62°, 177.5°			
$\chi(5')$	-57°, 55°, 180°			

TalANAc1C-1,3-GlcNAc

GlcNAc-1,3-TalANAc1C

ϕ, ψ	70°, 100° 150°, 140° 100°, -70°, -100° -60°, -130°
	-50° -20°, 90° -110°, -120° 40°, -110°
$\chi(2)$	80°, 120°, 160° -60°, 90°, 150°
$\chi(3)$	160° -105°
$\chi(4)$	-60° -130°
$\chi(5)$	-150°, -90°, 30° -60°, 60°, 180°
$\chi(6)$	0°, 180° -60°, 60°, 180°
$\chi(1')$	-30° 40°
$\chi(2')$	-60°, 90°, 150° 80°, 120° 160°
$\chi(4')$	-150°, -90°, 180° -60°, 30°, 180°
$\chi(5')$	180° -85°
$\chi(6')$	60° 180°

3.4. Minimierung der dimeren Saccharide

3.4.1. Dimere in 1,3-Verknüpfung

Um geeignete Startwerte für die beiden Torsionswinkel der glykosidischen Brücke zwischen zwei Saccharidresiduen zu erhalten, wurde der gesamte Konformationsraum dieser beiden Winkel ϕ und ψ in 10° -Schritten hinsichtlich der Konformationsenergie durchgemustert.

Die Seitengruppen wurden hierfür in jedem Falle auf das dem Ring unmittelbar anhaftende Atom gekürzt, so daß die Torsionswinkel dieser Gruppen nicht berücksichtigt werden mußten, ein Verfahren, das bei Anfertigung von Übersichten ausreichend genaue Ergebnisse liefert und in ähnlicher Form bei entsprechenden Problemen angewendet worden ist /z.B. 53,57/.

Die Abb. 2-6 zeigen die so erhaltenen Maps für GlcNAc-1,3-GlcNAc (für Vergleichszwecke), GlcNAc-1,3-TalANAc1 und TalANAc1-1,3-GlcNAc (zur Nomenklatur s. Kapitel 5.1.), letztere jeweils mit beiden untersuchten Ringkonformationen für die Talosaminuronsäure. Die in diesen Maps vorgefundenen Minima dienten zusammen mit den Bestwerten für Torsionswinkel der Seitenketten als Startwerte für die Minimierung der glykosidischen Brücken. Berücksichtigt wurden hierbei neben ϕ und ψ mindestens die Torsionswinkel $\chi(2)$, $\chi(2')$ und $\chi(4')$; Seitengruppen, die von der Stelle glykosidischer Verknüpfung weiter entfernt sind, sollten keinen signifikanten Einfluß auf diese ausüben können /vgl. 53/. Im Falle der Dimeren mit TalANAc1C wurden zwar ungestutzte Modelle mit dem vollen Atombestand zugrundegelegt, die wenig signifikanten Torsionswinkel erschienen aber nur mit einem Rotamer in den Startätzen (Tabelle 2). Die 216 Startätze im Falle von GlcNAc-1,3-GlcNAc und TalANAc1-1,3-GlcNAc ergaben 44 bzw. 30 Minima mit Energien unter 42 kJ/Mol relativ zur energieniedrigsten gefundenen Konformation, die 144 Startätze im Falle von GlcNAc-1,3-TalANAc1 ergaben entsprechend 28, die 648 Startätze für TalANAc1C-1,3-GlcNAc 138 und die 972 Startätze für GlcNAc-1,3-TalANAc1C 330 Minima. In den Tabellen 6-10 sind diese Minima in gleicher Weise wie in Tabelle 3 dargestellt.

Abbildung 2

Ramachandranmap der BisacetylaminoLaminarabiose

I, II Regionen von Konformeren niedrigerer Energie (s. Kapitel 3.4.1.). Durchgehende Linien umranden Konformationsgebiete mit Energien bis zu 42 kJ/Mol über dem globalen Minimum (x), gestrichelte Linien solche mit Energien bis zu 21 kJ/Mol. Punkte markieren die Konformationen der glykosidischen Bindung in den Kristallstrukturen einiger Oligosaccharide mit β -1,3-Verknüpfung:

Octa-O-acetyldigalactose /71/

Olgose /72/

Glucosaminylgalactose /73/

Laminarabiose /74/

Hepta-O-acetyllaminarabiosemethyleglycosid /75/

Antibiotikum K-41, Natrium-p-jodbenzoat /76/

Pentaacetylavileurekanose /77/

Carriomycin, Thalliumsalz /78/

Abbildung 2

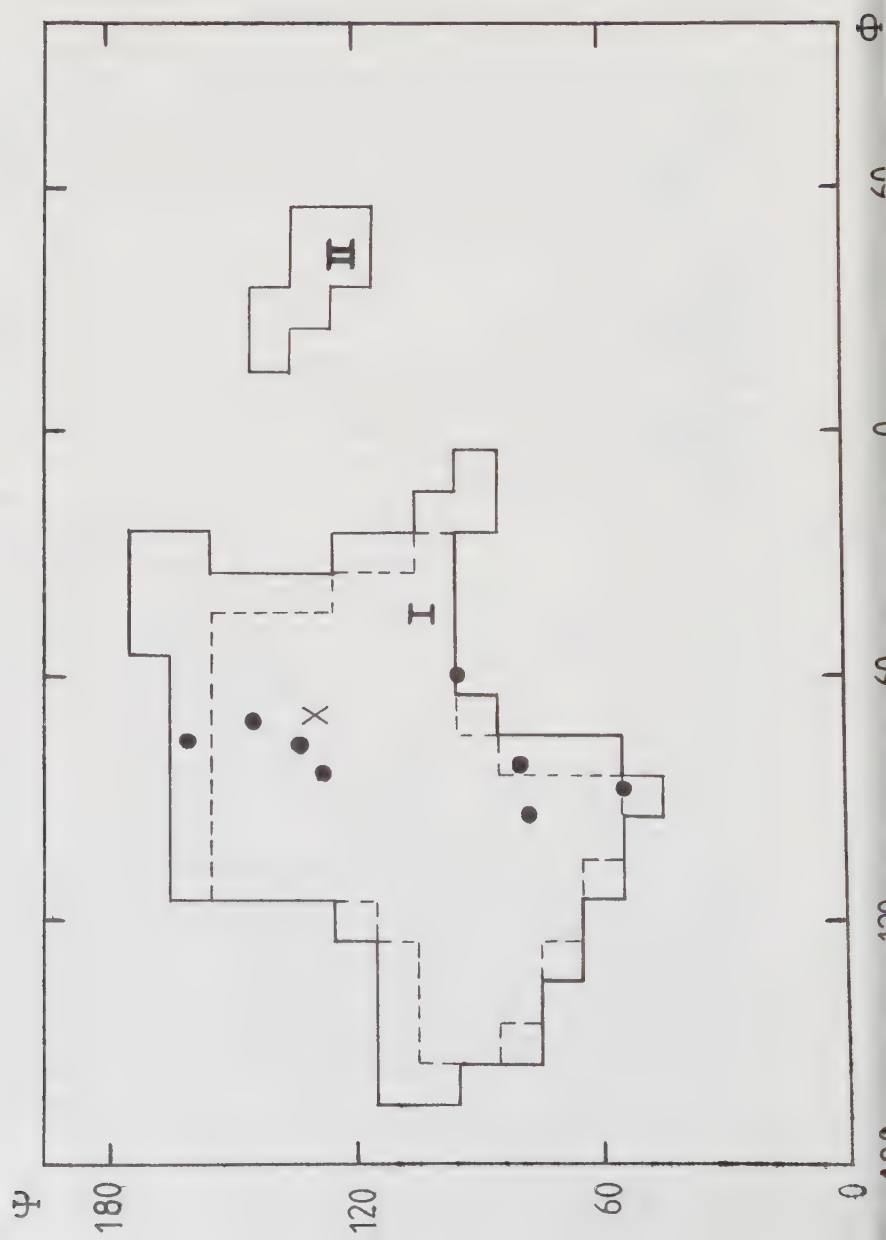


Abbildung 3 (Seite 38)

Ramachandranmap der N,N'-Diacetylglucosaminy1-1,3-talosaminuronsäure-C1.
Darstellung wie in Abbildung 2.

Abbildung 4 (Seite 39)

Ramachandranmap des N,N'-Diacetylalosaminuronyl-C1-1,3-glucosamins.
Darstellung wie in Abbildung 2.

Abbildung 5 (Seite 40)

Ramachandranmap der N,N'-Diacetylglucosaminy1-1,3-talosaminuronsäure-1C.
Darstellung wie in Abbildung 2.

Abbildung 6 (Seite 41)

Ramachandranmap des N,N'-Diacetylalosaminuronyl-1C-1,3-glucosamins.
Darstellung wie in Abbildung 2.

Abbildung 3

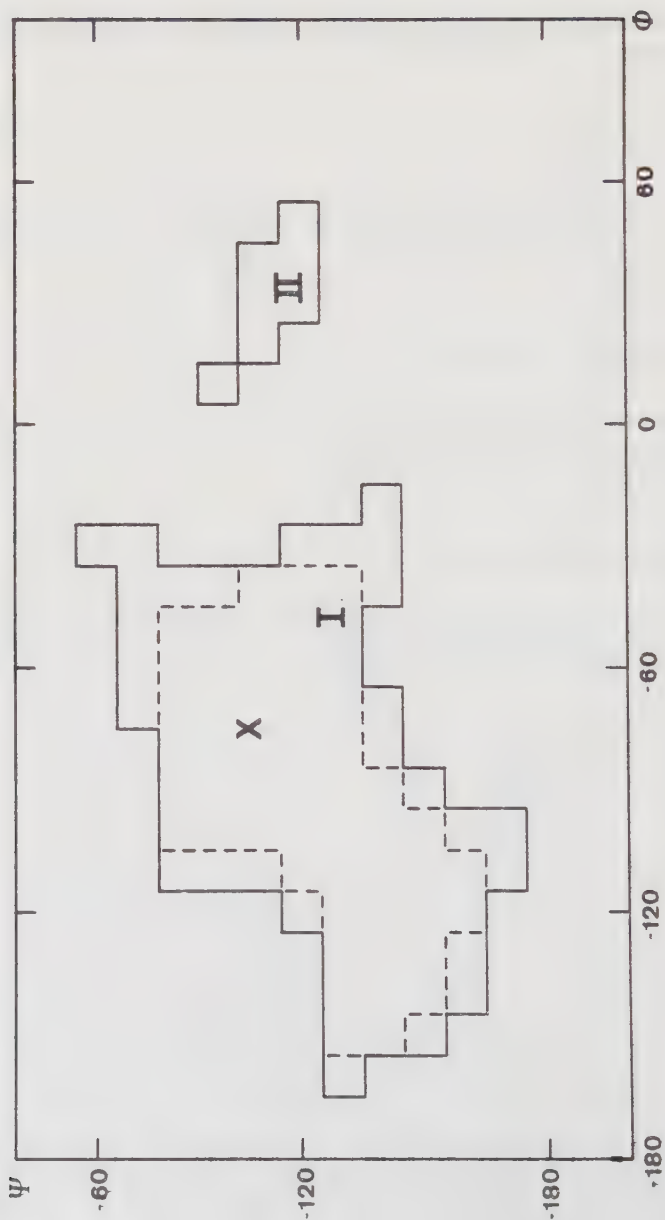


Abbildung 4

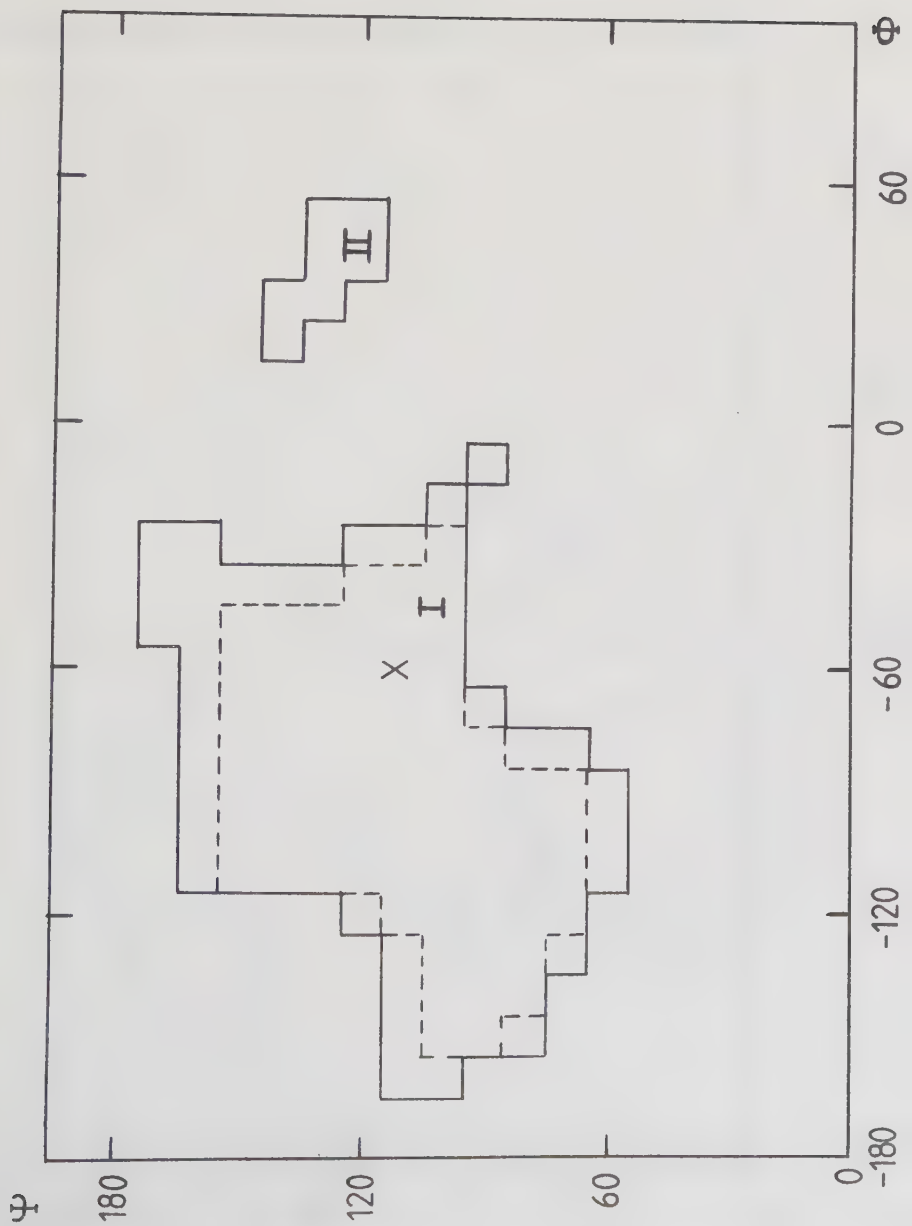


Abbildung 5

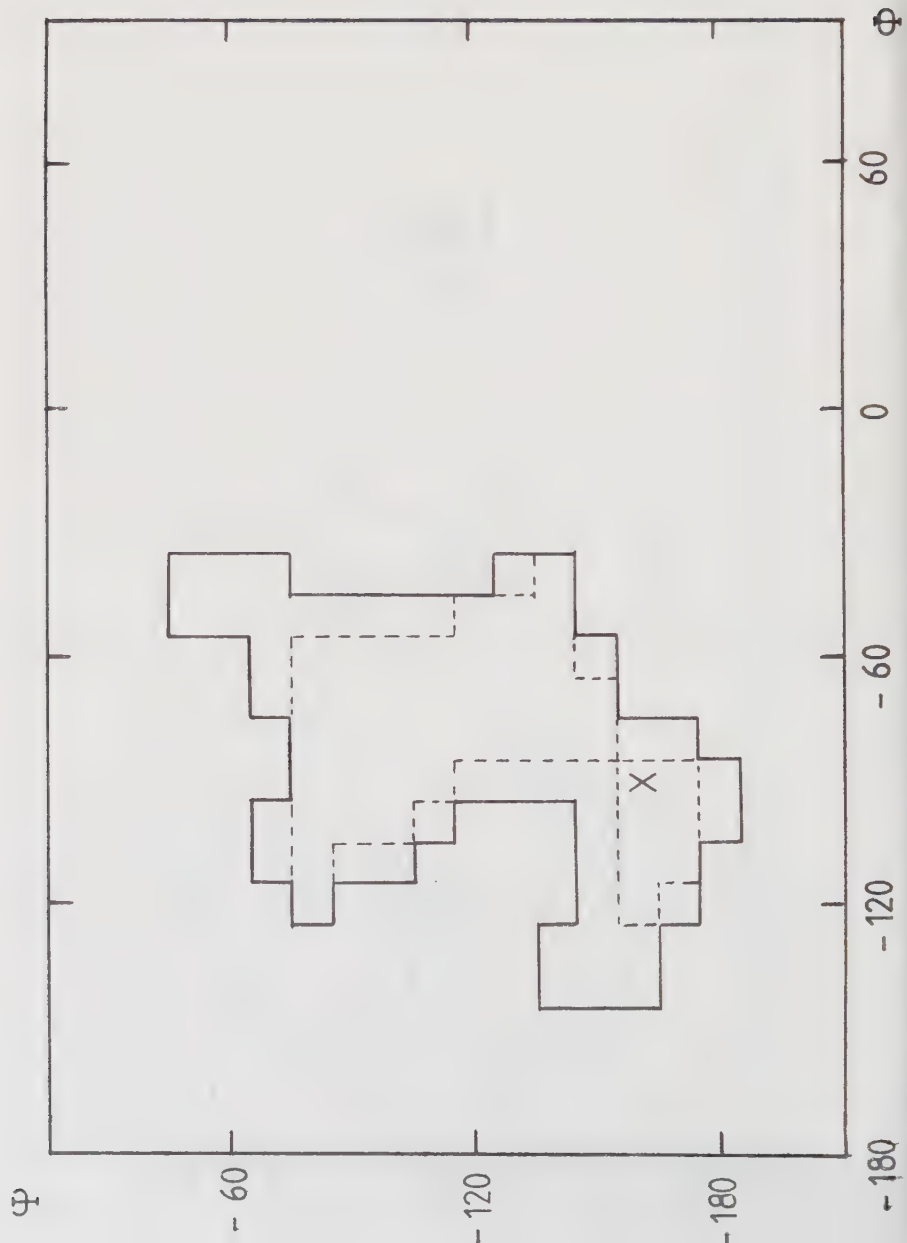
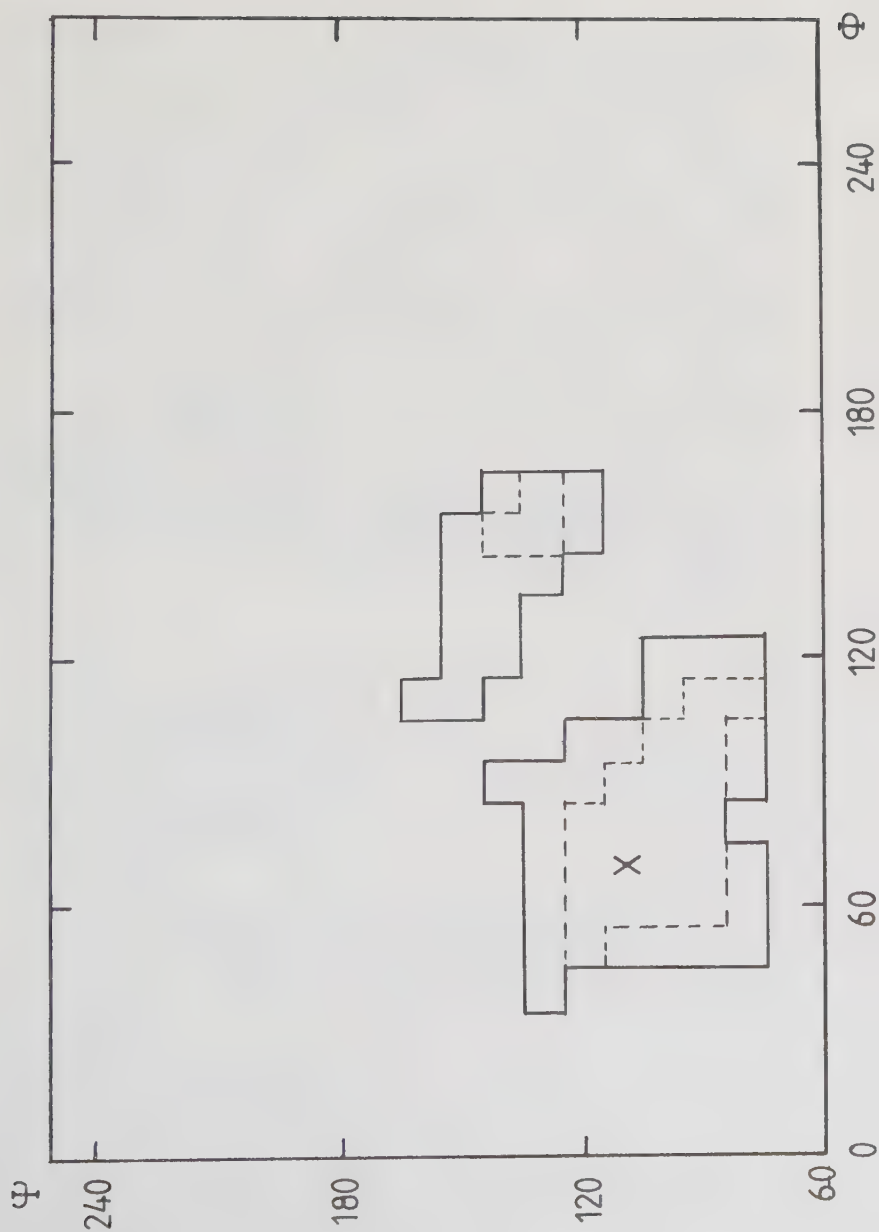


Abbildung 6



3.4.2. N,N'-Diacetylchitobiose

Das Vorgehen bei der Bearbeitung der N,N'-Diacetylchitobiose unterschied sich nicht prinzipiell von dem im Falle der 1,3-Disaccharide. Im Modell zur Ermittlung der Ramachandranmap für die 1,4-glykosidische Verknüpfung fielen gegenüber einem vollständigen Modell die Atome an O(3), O(4), C(6), O(1'), N(2'), O(3') und das Atom H(60') fort; der verbleibende Torso weist also neben den beiden glykosidischen die beiden Torsionswinkel $\chi(2)$ und $\chi(5')$ auf. Die neun Ramachandranmaps, die durch Voreinstellung von $\chi(2)$ auf -60° , 90° und 160° und von $\chi(5')$ auf -57° , 55° und 180° , Minima beim Monomer, entstehen, wurden in einer Übersichtsmap vereinigt (s. Abb. 7). Diese Vereinigung konnte ohne Probleme vorgenommen werden, da die neun einzelnen Maps nur unwesentliche Unterschiede aufweisen.

Nach Hinzunahme der Hydroxylgruppe an C(3') weist das Dimermodell die fünf Torsionswinkel ϕ , ψ , $\chi(2)$, $\chi(3')$ und $\chi(5')$ auf; ausgehend von den aus Monomerminima und Minima der Ramachandranmaps gebildeten Startwerte (s. Tabelle 2) wurde das Modell der Minimierung unterzogen; Tabelle 4 zeigt die gefundenen Dimerminima.

Abbildung 7

Ramachandranmap der N,N'-Diacetylchitobiose.

Darstellung wie in Abbildung 2. Punkte markieren die Konformationen der glykosidischen Bindung in den Kristallstrukturen folgender Oligosaccharide mit β -1,4-Verknüpfungen:

β -Cellobiosemethyglycosid /79/

α -Lactose /80,81/

β -N,N'-Diacetylchitobiose als Lysozymkomplex /82/

Cellobiose /83,84,85/

Mannosyl-1,3-mannosyl- α -N-acetylglucosamin /86/

β -N,N',N''-Triacetylchitotriose-1,4-gluconolacton als Lysozymkomplex /87/

Lactose-CaBr₂-Komplex /88/

Lactose-CaCl₂-Komplex /89/

Undeca-O-acetylcellotriose /90/

Octa-O-acetylcellobiose /91/

β -Tetra-O-acetylglucosyl- β -6-O-trityl-tri-O-acetylglucose /92/

β -Lactose /93/

α -Chitin /94/

β -Chitin /95/

Olgose /72/

β -N,N'-Diacetylchitobiose /96/

α -N,N'-Diacetylchitobiose /97/

Galactosyl-N-acetylglucosamin /98/

D-Galactosyl-(1S)-spiro-D-glucosyl-bis-p-brombenzyloxy-oxaindan /99/

Pentaacetylavileurekanose /77/

Dioxin /100,101/

Gitoxin /102/

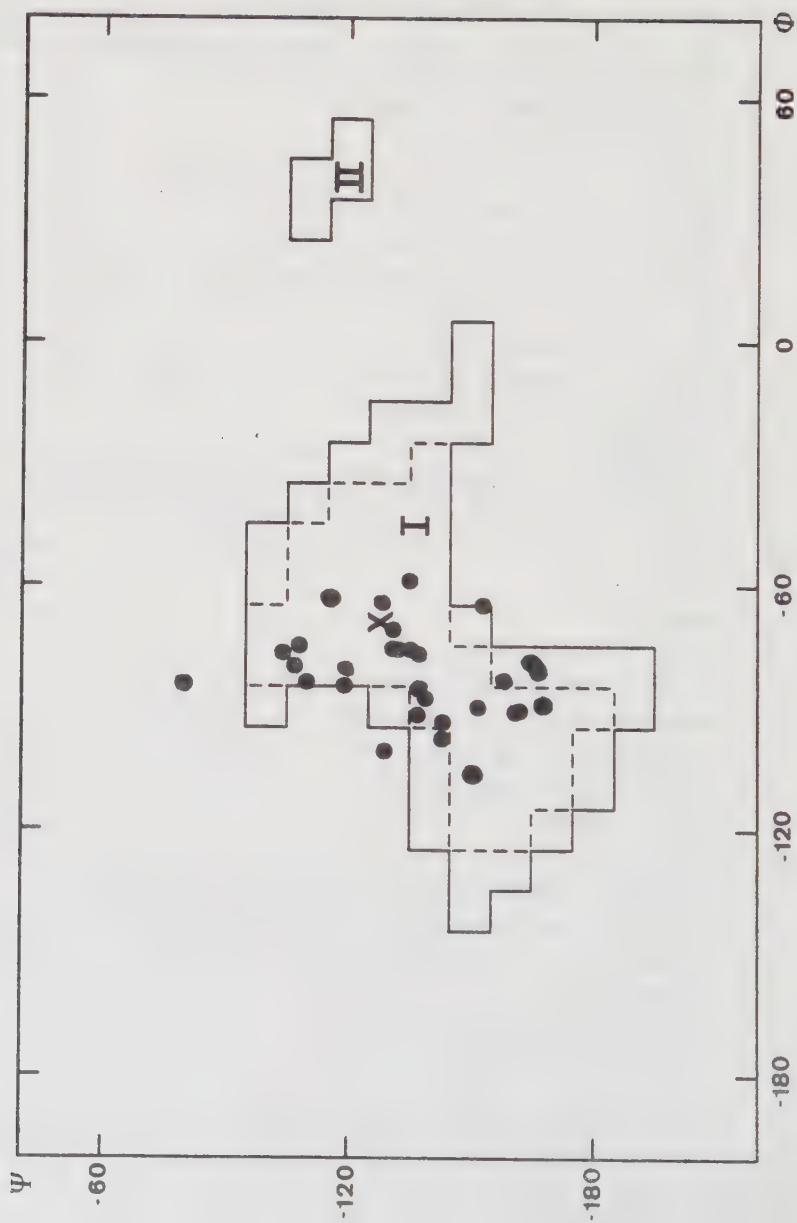
4-O-Methyl- α -D-glucuronyl-1,2- β -D-xylosyl-1,4-D-xylose /103/,

diese durch den Saccharidrest in 2-Position sterisch stark behinderte Konformation wird durch den Punkt bei $(\phi, \psi) = (-82^\circ, -80^\circ)$ repräsentiert.

β -D-Xylobiose /104/

Dioxigenin-bis-diquitoxosid /105/

Abbildung 7



3.5. Bildung von Polysaccharidketten

Die für die Disaccharide gefundenen besten Konformationen beschreiben jeweils die relative Lage zweier in der Polysaccharidkette aufeinanderfolgender Saccharidresiduen zueinander. Es ist daher möglich, durch Kombination dieser Disaccharidkonformationen Modelle für Polysaccharidketten aufzustellen. Zur Darstellung eines alternierenden Heteropolysaccharids vom Typ $A \rightarrow B \rightarrow A \rightarrow B$ werden beispielsweise die Ringe B zweier Disaccharidmodelle $A \rightarrow B$ und $B \rightarrow A$ zur Deckung gebracht und so ein Trisaccharidmodell $A \rightarrow B \rightarrow A$ erzeugt. Kombination des Ringes $A \rightarrow$ mit $\rightarrow A$ zweier derartiger Trisaccharide ergibt ein Pentasaccharid $A \rightarrow B \rightarrow A \rightarrow B \rightarrow A$ und so fort.

Die so gewonnenen Polysaccharidmodelle sind nur aussagekräftig, wenn kein starker Einfluß nicht benachbarter Ringe aufeinander vorliegt. Ein solcher Einfluß wäre auf zwei Arten denkbar: Zum einen sind Wechselwirkungen entlang der Kette, also zum jeweils dritten Residuum möglich, zum anderen können bei starker Krümmung und Spiralbildung des Saccharidstranges entlang der Kette weit entfernte Residuen in räumliche Nachbarschaft gelangen.

Zur Kontrolle des ersten Falles wurden einige aus den energiegünstigsten Konformationen gebildete Trisaccharide nachminimiert, um die Einflüsse zweier Nachbarringe auf den mittleren Ring zu testen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 15 dargestellt.

Der zweite Fall bedarf der Untersuchung eines längeren Saccharidstrangabschnittes. Wie im Kapitel 3.1. dargelegt, können zur Beschreibung derartiger Abschnitte Helixparameter herangezogen werden. Derartige Parameter von Kombinationen der energiegünstigsten Disaccharid-Konformationen zeigen die Tabellen 6,16,17.

Tabelle 3

Minima des N-Acetylglucosamins.

Neben einigen Konformationen mit den niedrigsten gefundenen Energien sind weitere Konformationen, die jeweils das erste Auftreten eines Rotamers eines Torsionswinkels zeigen, aufgeführt. ΔE ist der Abstand zur Energie des gefundenen globalen Minimums in kJ/Mol.

Nr.	x(1)	x(2)	x(3)	x(4)	x(5)	x(6)	ΔE
1	-32	162	-105	180	173	55	0.00
2	19	162	-105	180	173	55	0.17
3	-32	162	-105	-178	-57	58	1.05
4	21	162	-105	-178	-57	58	1.13
5	-33	162	-105	-179	56	-57	1.17
6	20	162	-105	-179	56	-57	1.30
7	-32	162	-105	-65	-177	-179	2.17
8	21	162	-105	-65	-177	-179	2.26
9	21	162	-105	-178	-60	180	2.47
10	-28	162	-105	-178	-60	180	2.51
11	-32	162	-105	180	60	180	2.63
12	13	162	-105	180	60	180	2.88
13	-31	162	-105	-68	-179	-73	3.30
14	21	162	-105	-68	-179	-73	3.39
15	-30	162	-105	-179	59	69	3.72
16	17	162	-105	-179	59	69	3.85

Fortsetzung der Tabelle 3

Nr.	$\chi(1)$	$\chi(2)$	$\chi(3)$	$\chi(4)$	$\chi(5)$	$\chi(6)$	ΔE
19	-32	162	-105	65	174	60	5.39
23	-33	162	-105	-101	-59	59	5.56
24	-28	162	-105	-179	-59	-94	5.56
26	-163	161	-105	180	173	55	5.60
28	36	91	178	-179	173	55	5.69
29	39	89	61	-65	-177	-179	5.85
34	23	147	163	-179	173	55	6.52
54	15	162	-105	-60	59	-179	7.86
56	38	89	80	-165	173	55	8.11
75	37	90	-62	180	173	55	8.82
109	-176	144	165	-179	173	55	10.58
322	-39	-61	175	180	174	55	19.98

4. Ergebnisse und Diskussion

4.1. N-Acetylglucosamin

Wie eingangs erwähnt, wurde eine Berechnung des Moleküls des N-Acetylglucosamins und seiner Oligomere vorgenommen, um durch den Vergleich der Ergebnisse (s. Tabellen 3-5) mit denen anderer Arbeitsgruppen eine Bestätigung für die Korrektheit der hier angewandten Methode zu gewinnen.

4.1.1. N-Acetylgruppe

Die Stellung der N-Acetylgruppe relativ zum Pyranosering wird durch den Torsionswinkel $\chi(2)$ beschrieben. Stellungen, bei denen die Peptidgruppenebene der N-Acetylgruppe senkrecht auf dem Zuckerring steht, werden durch $\chi(2) = 120^\circ$ oder aber -60° beschrieben. Alle energie günstigen Konformationen weisen um etwa $30-40^\circ$ relativ zum ersten Fall gekippte N-Acetylgruppen mit $\chi(2)$ ca. 160° oder 90° auf, wobei der leichte energetische Vorsprung von $\chi(2) = 160^\circ$ auf die Ausbildung einer Wasserstoffbrücke zwischen der OH-Gruppe an C(3) und dem Carbonylsauerstoff der N-Acetylgruppe (s. Tabelle 9) zurückzuführen ist. Der zweite Fall, $\chi(2) = -60^\circ$, entspricht zwar einem lokalen Minimum, ist energetisch aber deutlich ungünstiger (um ca. 20 kJ/Mol) als die besten gefundenen Minima.

Dies ist bemerkenswert, da Pincus et al. /53/, die eine ähnliche Untersuchung des N-Acetylglucosamins vorgenommen haben, generell zwar übereinstimmende Resultate erzielten, bezüglich der Stellung der N-Acetylgruppe aber zu dem Ergebnis gelangten, $\chi(2) = -60^\circ$ entspräche der energieniedrigsten Position, gefolgt von $\chi(2) = 120^\circ$.

Im Gegensatz zur vorliegenden Arbeit, in der in einem sogenannten 'full atom approach' alle berücksichtigten Atome explizit in den Berechnungen auftreten, verwendeten Pincus et al. einen 'united atom approach', in dem aliphatische Wasserstoffatome mit dem Kohlenstoff, mit dem sie verbunden sind, zu einer radialsymmetrischen Einheit zusammengefaßt worden sind. Die oben erwähnten Differenzen im Ergebnis scheinen mit diesem methodologischen Unterschied

zusammenzuhängen, zumal diejenigen Konformationen von Pincus et al. /53/, die zu Vergleichszwecken ebenfalls mit einem 'full atom approach' bestimmt worden waren, auch in der vorliegenden Arbeit als Minima, und zwar in der gleichen Reihenfolge bezüglich ihrer relativen Energie, gefunden wurden. Offensichtlich spielen die Wechselwirkungen zwischen den aliphatischen Wasserstoffen an den Ringkohlenstoffatomen C(1), C(2) und C(3) und dem Carboxylsauerstoff O(7) eine wichtige Rolle für die Orientierung der N-Acetylgruppe; diese Einflüsse werden durch einen 'united atom approach' zu stark abgeschwächt /106/.

Untersuchungen der Kristallstrukturen von Acetylaminozuckern unterstützen diese Anschauung; im Dimer β -1,4-N,N'-Diacetylchitobiose /96/ kann eine leichte Displanarität einer N-Acetylgruppe als Einstellung eines Gleichgewichtes zwischen den durch Planarität begünstigten Einflüssen und der Abstoßungswechselwirkung zwischen O(7) und H(2) angesehen werden.

Auch in den Kristallstrukturen anderer 2-Acetylaminopyranosen wird ein Wert für $\chi(2)$ um -60° nicht gefunden; stattdessen gruppieren sich die Werte, in der Mehrzahl der Fälle mit deutlichen Abweichungen, um $\chi(2) = 120^\circ$ (Abb. 8). Obwohl die geringe Anzahl der untersuchten Fälle für eindeutige statistische Aussagen zu klein ist, scheint im Falle axialen O(1) diese Abweichung von $\chi(2) = 120^\circ$ deutlich größer zu sein als bei äquatorial positioniertem O(1); eine Betrachtung an Kalottenmodellen zeigt, daß ein äquatoriales O(1) viel stärker die möglichen Positionen von O(7) einschränkt als dies ein axiales O(1) tun würde.

Die von Taga und Osaki /107/ allgemein für 2-Acetylaminopyranosen postulierten Bestwerte für $\chi(2)$, 90° und 145° , widersprechen diesen Anschauungen nicht, auch Berechnungen unter Verwendung verschiedener semiempirischer Verfahren /54-57/ bestätigen die hier erzielten Resultate; der energiegünstigste $\chi(2)$ -Wert dort wurde zu 160° gefunden.

Abbildung 8

Stellung der N-Acetylgruppe in 2-Desoxy-2-acetamidopyranosen (Kristallstrukturdaten), dargestellt durch eine Newmanprojektion des Torsionswinkels $\chi(2)$; A α -Saccharide, B β -Saccharide.

Angeführt sind:

β -N-Acetylglucosamin und β -N,N'-Diacetylchitobiose als Lysozymkomplex /82/

α -Mannosyl-1,3- β -mannosyl-1,4- α -N-acetylglucosamin /86/

β -N,N',N''-Triacetylchitotriose-1,4-gluconolacton als Lysozymkomplex /87/

α -Chitin /94/

β -Chitin /95/

β -N,N'-Diacetylchitobiose /96/

α -N,N'-Diacetylchitobiose /97/

β -Galactosyl-1,4- α -N-acetylglucosamin /98/

α -N-acetylglucosamin /108, 109/

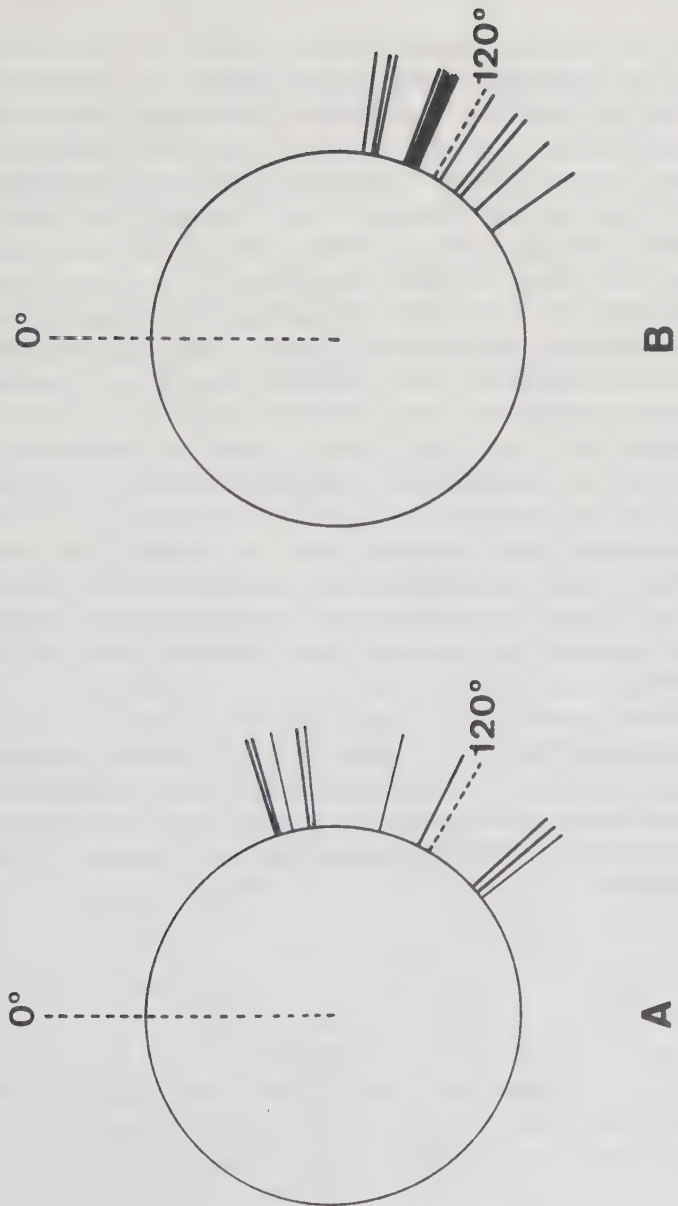
α -N-acetylgalactosamin /111,112/

β -1-O-p-Nitrophenyl-N-acetylglucosamin /113/

β -N-Acetylaminoglucosaminylasparagin /114,115/

Octaacetyl-di-1,3- α -D-galactosamin /116/

Abbildung 8



4.1.2. Übrige Seitengruppen

Die oben erwähnte Wasserstoffbrücke zwischen der Hydroxylgruppe an C(3) und dem Carboxylsauerstoff O(7) tritt bei $\chi(2) = 161^\circ$ und $\chi(3) = -104^\circ$ auf (Tabelle 9). Yadav et al. /55/ fanden eine entsprechende Wechselwirkung bei $\chi(3) = -145^\circ$. In beiden Fällen verhindert der relativ geringe Abstand zwischen O(3) und O(7) die Ausbildung einer gestreckten Wasserstoffbrücke, d.h. während die Atome der Peptidbindung N(2), C(7) und O(7) mit O(3) annähernd eine Ebene bilden, liegt H(30) außerhalb dieser Ebene. Beide oben erwähnten Winkelwerte für $\chi(3)$ sind nun insofern fast gleichwertig, als die entsprechenden Positionen des H(30) etwa spiegelsymmetrisch bezüglich dieser Ebene liegen, so daß die Geometrie der beiden Brücken gleichwertig erscheint.

Im Falle $\chi(4) = -165^\circ$, $\chi(3) = 80^\circ$ liegt eine Kreuzwechselwirkung von H(30) mit O(4) und H(40) mit O(3) vor. Die Hydroxylgruppe an C(4) kann darüber hinaus auch mit der Hydroxylgruppe an C(6) in Wechselwirkung treten; im Falle $\chi(4) = -65^\circ$, $\chi(5) = 180^\circ$, $\chi(6) = 60^\circ$ ist die Hydroxylgruppe an C(6) Protonendonator. Im Falle der gauche-trans-Position der Hydroxymethylgruppe $\chi(5) = 60^\circ$, $\chi(6) = -60^\circ$ tritt Wechselwirkung zwischen dieser Gruppe und dem Ringsauerstoff auf.

Auch die anomere Hydroxylgruppe an C(1) ist in den energiegunstigsten Konformationen auf O(5) hin ausgerichtet ($\chi(1)$ im Bereich $20-30^\circ$ mit beiden Vorzeichen). Die jeweils nicht in einer der oben erwähnten Wechselwirkungen involvierten Hydroxylgruppen nehmen Positionen in der Nähe der erwarteten lokalen Minima, d.h. mit χ -Werten um 60° und 180° , ein.

4.2. Dimere des N-Acetylglucosamins

4.2.1. N,N'-Diacetylchitobiose

Ausgehend von den gefundenen Werten für N-Acetylglucosamin sind zwei Dimere, N,N'-Diacetylchitobiose in 1,4-Verknüpfung und Bisacetylaminolaminarabiose in 1,3-Verknüpfung, berechnet worden.

N,N'-Diacetylchitobiose ist die dimere Baueinheit des als Gerüstsubstanz der Pilze und Gliedertiere bekannten Chitins. Da diese Substanz chemisch eng mit Murein verwandt ist und da weiterhin eine ganze Reihe Kristallstrukturen von Zuckern mit diäquatorialer 1,4-Verknüpfung bekannt sind, ist die Berechnung zur Absicherung des Verfahrens und für Vergleiche mit Murein nützlich. Grundsätzlich stehen die hier erhaltenen Ergebnisse, wie sie sich in der Ramachandranmap Abb. 7 widerspiegeln, nicht im Widerspruch zu denen aus Berechnungen anderer Arbeitsgruppen an diäquatorial 1,4-verknüpften Pyranosen /52,54,57,60,117/; auch die mit der gleichen Methode vorgenommene Berechnung eines N,N'-Diacetyl-talosaminuronyl-1,4-glucosamins /43/ lieferte erwartungsgemäß eine nur unwesentlich unterschiedliche map. Obwohl die Konformationen kristalliner Zucker zu einem gewissen Teil durch Packungseinflüsse, intermolekulare Wasserstoffbrücken und andere Wechselwirkungen außerhalb des Rahmens dieser Untersuchung bedingt werden, liegen dennoch praktisch alle in Kristallen gefundenen Strukturen unterschiedlicher, aber 1,4-verknüpfter Pyranosen in einem als energiegünstig ausgewiesenen Gebiet (s. Abb. 7).

Nimmt man hinzu, daß die mit unterschiedlichen Stellungen der glykosidischen Bindung unmittelbar benachbarten Seitengruppen berechneten neun Ramachandranmaps, die zu Abb. 7 geführt haben (siehe Kapitel 3.4.2.), nur unwesentliche Unterschiede untereinander aufwiesen, ist dies alles als Hinweis dafür zu werten, daß im Normalfall die Konformation einer glykosidischen Bindung durch Atomgruppen, die der Bindung räumlich benachbart sind, kaum, durch andere Atome aber noch weniger beeinflusst wird. Natürlich sind Ausnahmen von dieser Regel denkbar (etwa cyclooligomere Saccharide), so daß diese allgemeine Annahme cum grano salis behandelt werden muß. Immerhin deutet die Einführung relativer Torsionswinkel zur

Klassifizierung von Oligosaccharidkonformationen durch Rees & Scott /118/ in die gleiche Richtung. Als unmittelbare Folge davon wurde bei der Aufstellung der Ramachandranmaps der meisten übrigen behandelten Disaccharide, die ja im wesentlichen der Ermittlung von Startwerten für die nachfolgende Minimierung dienen sollen und daher nicht sonderlich exakt sein müssen, auf die Berücksichtigung von Seitengruppen verzichtet.

Die gefundenen Minima (Tabelle 4) lassen sich zu zwei Gebieten um $(\phi, \psi) = (-70^\circ, -130^\circ)$ und $(-90^\circ, -170^\circ)$ herum gruppieren. Diese beiden Minimalgebiete werden durch eine etwa 8.4 kJ/Mol hohe Energiebarriere getrennt. Das größere Gebiet enthält neben dem energieniedrigsten gefundenen Minimum auch alle weiteren Minima bis zu ca. 29 kJ/Mol relativer Energie. Dieses Gebiet (und die diesem Gebiet entsprechenden Minimalregionen an der Disaccharidkette) soll im Folgenden Gebiet I genannt werden. Die andere Region, mit Bestenergien um 29 kJ/Mol kaum von praktischem Interesse, heiße Gebiet II.

Gebiet I (Abb. 9) wird zu einer 'Wespentaille' etwa bei $(\phi, \psi) = (-90^\circ, -150^\circ)$ eingeschnürt; die 'Paßlinie', d.h. diejenige Gerade durch diesen Punkt, die das Minimalgebiet am wenigsten berührt, trennt als sehr niedrige Energieschwelle (etwa 8 kJ/Mol hoch) zwei Untergebiete voneinander. Während das dem Modell ähnlichste Molekül mit untersuchter Kristallstruktur, β -N,N'-Diacetylchitobiose, in der map bei $(\phi, \psi) = (-90^\circ, -162^\circ)$ /96/, d.h. im etwas energiehöheren Untergebiet anzutreffen ist, liegen die Torsionswinkelwerte für das Anomer α -N,N'-Diacetylchitobiose /97/ bei $(\phi, \psi) = (-80^\circ, -107^\circ)$, also im gleichen Untergebiet wie das beste gefundene Minimum.

Konformationen aus Gebiet I sind grundsätzlich in der Lage, eine Wasserstoffbrücke zwischen der Hydroxylgruppe an C(3) des reduzierenden Rings, H(30') - O(3'), zum Ringsauerstoff des nichtreduzierenden Rings, O(5), auszubilden (s. Tabelle 14). Das bedeutet, daß bei diesen Konformationen die beiden Ringebenen in etwa (aber nicht exakt) zusammenfallen, wobei die beiden Acetylgruppen in entgegengesetzte Richtungen zeigen. Konformationen mit dieser Struktur, stabilisiert durch diese Brücke werden als normal in β -1,4-verknüpften Oligosacchariden angesehen (s.z.B. /98/). Im

Gegensatz dazu werden Konformationen aus Gebiet II durch die Wasserstoffbrücke O(7)...H(30') - O(3) stabilisiert; hier stehen also die N-Acetylgruppen etwa zur gleichen Seite.

Tabelle 4

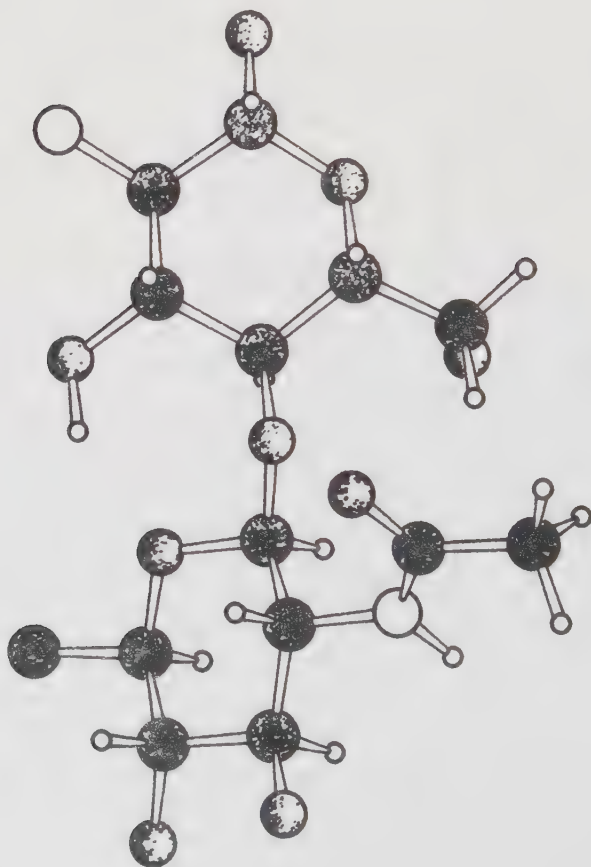
Minima der N,N'-Diacetylchitobiose.

Darstellung wie in Tabelle 3.

Nr.	ϕ	ψ	$\chi(2)$	$\chi(3')$	$\chi(5')$	ΔE
1	-67	-128	88	52	-61	0.00
2	-68	-127	154	50	175	0.63
3	-67	-128	88	52	59	1.09
4	-59	-128	90	50	173	2.34
5	-67	-129	148	53	-62	2.97
6	-66	-129	148	53	58	4.05
7	-68	-120	154	176	171	6.22
10	-96	-153	149	82	-63	7.48
16	-68	-121	154	-56	172	9.49
22	-99	-167	109	174	-63	11.79
27	-65	-129	-61	52	-62	14.71
45	-53	-129	-61	-30	171	25.70
50	40	-114	153	177	57	32.11
54	40	-113	152	-76	57	38.40
55	21	-106	115	86	59	40.74

Abbildung 9

Energieniedrigste gefundene Konformation der N,N'-Diacetylchitobiose
(Nr. 1 der Tabelle 4).



4.2.2. Bisacetylaminolaminarabiose

Die Ramachandranmap des zweiten hier untersuchten Dimer des N-Acetylglucosamins, Bisacetylaminolaminarabiose, zeigt Abb. 2. Die Form und Verteilung der Bestenergiegebiete ist bei diesem Molekül mit β -1,3-glykosidischer Verknüpfung der im β -1,4-Fall gefundenen (Abb. 7) sehr ähnlich; auch hier können zwei Gebiete I und II unterschieden werden, wobei das größere, Gebiet I, in zwei Untergebiete geteilt werden kann, von denen das etwas energiegemäßere neben dem globalen Minimum auch die Mehrzahl der (wenigen) in Kristallstrukturuntersuchungen gefundenen Konformationen von diäquatorial 1,3-verknüpften Pyranosen enthält.

Wenn zum Zwecke einfacherer Beschreibung die hier grundsätzlich für alle Zucker angenommene Sesselringform geometrisch idealisiert betrachtet wird, liegen die Mittelpunkte aller sechs Ringbindungen auf einer Ebene. Die Ringatome sind abwechselnd oberhalb und unterhalb dieser Ebene angeordnet; oder anders ausgedrückt, die Gerade durch den Ringmittelpunkt senkrecht zu dieser Ebene ist eine sechszählige Drehsymmetrieachse.

Der Übergang von einer diäquatorialen 1,4- zu einer diäquatorialen 1,3-Verknüpfung würde daher zu gleichartigen relativen Lagen der beiden Ringe führen, wenn in konsequenter Anwendung dieses Symmetrieelementes zusätzlich zum Fortschreiten um eine Ringecke bei einem Ring Oberseite und Unterseite vertauscht werden. Natürlich kann diese Vertauschung bei Zuckern nicht durch eine Spiegelung an oben erwähnter Ebene vorgenommen werden (das würde alle Chiralitäten des Moleküls ins Gegenteil verkehren). Stattdessen muß eine Drehung um 180° um eine in dieser Ebene liegende auf die Verknüpfungsstelle zeigende Achse erfolgen; eine Symmetrieoperation, die am idealen Cyclohexan mit der eben erwähnten Spiegelung identisch ist.

Es muß daher erwartet werden, daß bei den günstigsten Konformationen des 1,3-verknüpften N-Acetyl- β -glucosamindimers in Gebiet I die beiden Ringe so angeordnet sind, daß analoge Molekülteile wie etwa die N-Acetylgruppen zur gleichen Seite vom Molekül wegstehen, während im 1,4-Fall das Gegenteil zutraf. Die gefundenen Minima bestätigen dies (Tab. 5, Abb. 10). Konformationen in Gebiet I können daher durch

eine Wasserstoffbrücke zwischen den N-Acetylgruppen stabilisiert werden ($O(7') \dots H(20) - N(2)$, Tab.14), wenn die Torsionswinkel $\chi(2)$, $\chi(2')$ beide bei 150° liegen. Die Hydroxylgruppe an $C(4')$ ersetzt bei 1,3-Verknüpfung die Gruppe an $C(3')$ im 1,4-Fall bei der Ausbildung einer Wasserstoffbrücke zu $O(5)$ in Konformationen des Gebiets I (Tab. 14), während in Gebiet II die Amidgruppe diese Rolle übernimmt (Brücke $O(5) \dots H(20') - N(2')$, Tab. 14), da ganz analog nun in diesem energie günstigeren Gebiet die Acetylgruppen in unterschiedliche Richtungen zeigen. In einigen Konformationen dieses Gebiets tritt noch eine Wechselwirkung zwischen der Hydroxylgruppe an $C(4')$ und der Acetylgruppe des nichtreduzierenden Rings auf (Tab. 14). Weitere Wasserstoffbrücken kommen in Konformationen mit relevanter Energie nicht vor.

Tabelle 5

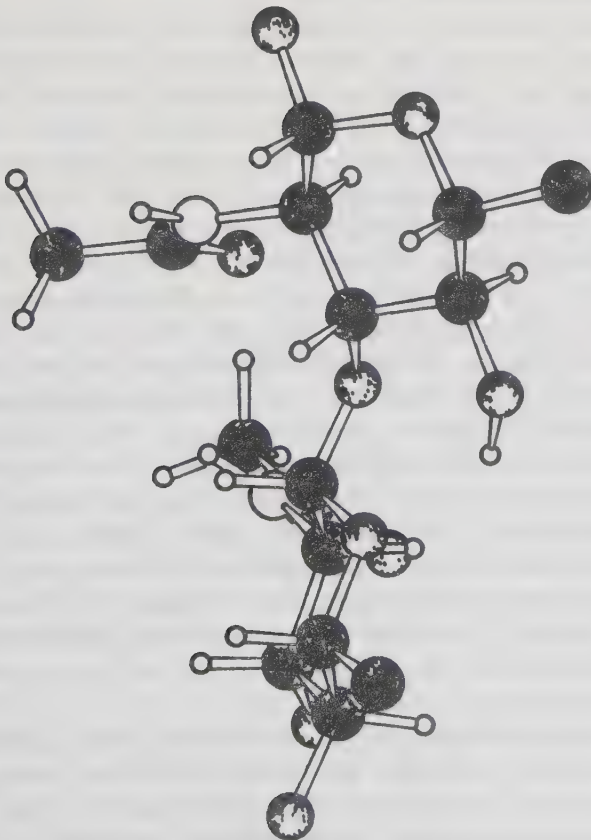
Minima der Bisacetylaminolaminararabiose.

Darstellung wie in Tabelle 3.

Nr.	ϕ	ψ	$\chi(2)$	$\chi(2')$	$\chi(4')$	ΔE
1	-61	112	151	149	170	0.00
2	-67	113	88	94	170	3.26
3	-74	111	149	95	173	4.89
4	-59	120	151	148	-87	8.90
13	-104	75	149	87	-143	16.80
29	39	129	151	87	-85	27.67
33	19	139	111	91	-164	29.26

Abbildung 10

Energieniedrigste gefundene Konformation der
Bisacetylaminolaminararabiose (Nr. 1 der Tabelle 5).



4.3. Polymeres N-Acetylglucosamin

Das in biologischem Material vorkommende Homopolymer des N-Acetyl- β -D-glucosamins ist Chitin, das mit unterschiedlicher Struktur, aber grundsätzlich in hochgeordneter Packung angetroffen wird. Typisches Strukturmerkmal ist dort eine Anordnung, bei der alle Saccharidringe in einer Ebene liegen, wobei die N-Acetylgruppen abwechselnd in gegenüberliegende Richtungen zeigen /119/. Diese Anordnung entspricht exakt einer zweizähligen Helix ($n=2$, s. Kapitel 5.3.) und ermöglicht eine energiegünstige Packung der Ketten.

Wenn die für Diacetylchitobiose hier gefundenen Minimalkonformationen jeweils einem Abschnitt der Polysaccharidkette aufgeprägt werden, entstehen Helices, die nach den Anmerkungen in Kapitel 5.3. zum Studium der Polysaccharide herangezogen werden können. Einige typische Beispiele zeigt die Tab. 6. Keine der so gebildeten Helices ist exakt zweizählig. Kombinationen der Torsionswinkel ϕ und ψ , die zu zweizähligen Helices führen würden, liegen in der Ramachandranmap ungefähr auf einer Gerade durch die Punkte $(\phi, \psi) = (-63^\circ, 180^\circ)$ und $(-122^\circ, -120^\circ)$, das heißt auf einer Linie, die die beiden Untergebiete des Gebiets I voneinander trennt, allerdings ohne mit der engsten Einschnürung zwischen den beiden Gebieten genau zusammenzufallen. Offensichtlich sind in diesem Falle die Packungswechselwirkungen im Kristallverband groß genug, eine Konformation, die im isolierten Strang energetisch zwar möglich ist, aber kein lokales Minimum darstellt, zu favorisieren. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit werden dadurch aber nicht entwertet; sowohl Murein als auch Pseudomurein liegen nativ als nichtkristalline Substanzen vor, bei denen sich also intermolekulare Wechselwirkungen nur statistisch auswirken können. Unter diesen Umständen dürften die Konformationen eines Moleküls, im 'Vakuum' bestimmt, denen in weitgehend isotroper Umgebung entsprechen.

Da die Linie $n=2$ die Grenzlinie zwischen rechts- und linkshändigen Helices darstellt, enthalten die beiden Untergebiete des Gebiets I jeweils Helices eines Drehsinns mit Helizitäten $n < 3$, wobei Konformationen mit gleichen n ungefähr auf Parallelen zur oben erwähnten Geraden mit $n=2$ liegen (Tab. 6).

Der Hub pro Residuum h , das heißt die auf die Helixachse projizierte Länge eines Zuckerabschnitts, liegt bei Konformationen des Gebiets I mit Werten um 510-520 pm nahe am geometrisch möglichen Maximalwert; diese Konformationen sind also weitestgehend gestreckt. Konformationen mit gleichem h liegen auf ungefähr kreisförmigen, konzentrischen Linien. Das Zentrum mit $h = 530$ pm liegt in der Nähe von $(\phi, \psi) = (-120^\circ, -120^\circ)$, also außerhalb der energiegünstigen Gebiete. Bei diesen gestreckten Konformationen erscheint die in Kapitel 3.5. vorgetragene Annahme, unmittelbar benachbarte Saccharidresidua seien die einzigen miteinander signifikant wechselwirkenden Zucker innerhalb eines Zuckerstranges, gerechtfertigt.

Wird bei konstant gehaltenem ψ der Winkel ϕ um 180° geändert, gelangt man von dem einen Extrem der sich um $n=2$ scharenden Konformationen zum anderen Extrem, bei dem n über alle Grenzen wächst. Die Grenzlinie " $n \rightarrow \infty$ " verläuft ungefähr durch $(\phi, \psi) = (35^\circ, -90^\circ)$ und $(50^\circ, -105^\circ)$; sie berührt also gerade den Rand des Gebiets II. Alle als lokale Minima angetroffenen Konformationen dieses Gebiets habe daher den gleichen, positiven Drehsinn (auch " $n \rightarrow \infty$ " ist eine Grenzlinie zwischen Regionen unterschiedlichen Drehsinns) zwischen $n = 5$ und $n = 6$. Der Hub pro Residuum ist klein: Die Helices des Gebiets II sind dadurch ausgezeichnet, daß die Längsachsen der Moleküle (d.h. die Strecken C(1) - C(4)) einen großen Winkel mit der Helixachse bilden, wobei diese Achse weit von den Ringmittelpunkten entfernt ist. Bei den Helices des Gebiets I fallen Längsachse und Helixachse dagegen fast zusammen. Bildlich gesprochen, ähneln Helices des Gebiets II einem Draht, der in das Gewinde einer dicken, flachhubigen Schraube eingelegt wurde ("hollow" /118/), während die des Gebiets I einem straffgespannten, wenig tordiertem Band gleichen ("extended" /118/). Der Hub pro Helixumlauf, n multipliziert mit h , kann bei Konformationen des Gebiets II so kleine Werte annehmen, daß die Grundannahme, nur Nachbarresiduen wechselwirkten miteinander, sicher zu verwerfen ist; die Zucker aufeinanderfolgender Windungen, die in nahen räumlichen Kontakt treten, sind entlang der Kette gerechnet ja nicht benachbart. Da aber wegen des relativ hohen Energiewertes Konformationen des Gebiets II in einem Gleichgewichtsgemisch sehr

selten auftreten dürften, sind helicale Abschnitte von mehr als vier Residuen mit Konformationen dieses Typs zu unwahrscheinlich, als daß sie die unter oben erwähnter Grundannahme gemachten Aussagen in Frage stellen.

Das β -1,3-verknüpfte Homopolymer des N-Acetylglucosamins, Acetylaminolaminarin, kommt in biologischem Material nicht vor; Strukturuntersuchungen, die zum Vergleich mit der vorliegenden Arbeit herangezogen werden könnten, liegen nicht vor. Dies Polymer wird daher hier nicht weiter betrachtet.

Tabelle 6

Helixparameter einiger Konformationen des poly-N-Acetylglucosamins mit β -1,4-Verknüpfung. Torsionswinkel in Grad, n Zähligkeit der Helix, h Hub pro Windung [nm] (vgl. Kapitel 5.3.), bezogen auf Monosaccharidresiduen. Zur Bezeichnung der Gebiete vergleiche Kapitel 4.2.1.

ϕ	ψ	n	h	Gebiet
-67	-128	-2.6	0.51	I
-96	-153	2.1	0.52	I
40	-114	-5.6	0.12	II
21	-106	-5.3	0.22	II

4.4. N-Acetylalosaminuronsäure

4.4.1. C1-Ringkonformation

Die Annahme der C1-Ringkonformation für L-N-Acetylalosaminuronsäure entspricht dem ältesten für diese Verbindung veröffentlichten Strukturvorschlag, in dem eine α -L-Pyranosuronsäure mit äquatorial orientiertem anomeren Sauerstoff postuliert wurde (/29, 33/; siehe auch Kapitel 2). In dieser Konformation sind also die Hydroxylgruppe an C(3) und die Carboxylgruppe an C(5) axial orientiert.

4.4.1.1. N-Acetylgruppe

Im Gegensatz zur N-Acetylgruppe im N-Acetylglucosamin ist in der N-Acetylalosaminuronsäure die N-Acetylgruppe einem axialständigen Hydroxyl an C(3) benachbart. Die übrige Umgebung von C(2) ist gleich, so daß die in Kapitel 4.4.1. angestellten Überlegungen bezüglich der Stellung der N-Acetylgruppe grundsätzlich auch hier gelten. Das Konformer mit $\chi(2) = -60^\circ$, das im N-Acetylglucosamin bereits als energetisch ungünstig erkannt wurde, tritt in der N-Acetylalosaminuronsäure in einem vertretbaren Rahmen überhaupt nicht mehr auf. Das diesem entgegengesetzte Konformer, $\chi(2) = 120^\circ$ ist auch hier in zwei Bereiche aufgespalten, die $\chi(2)$ -Werte von 143° bis 161° und von 78° bis 92° aufweisen (Tab 7). Konformationen im ersten dieser beiden Bereiche können nicht wie im Acetylglucosamin durch eine Wasserstoffbrücke stabilisiert werden, da die Hydroxylgruppe am C(3) axialständig ist. Werte am unteren Ende des Intervalls, $\chi(2)$ nahe 145° , treten bei N-Acetylglucosamin in energetischer Reihenfolge früher auf als bei N-Acetylalosaminuronsäure. Diese Verschiebung der bevorzugten Werte zum von $\chi(2) = 120^\circ$ entfernten Ende des Winkelintervalls kann korreliert werden mit den Werten für $\chi(2)$ in Zuckern mit durchweg äquatorialständigem Hydroxyl an C(3), aber mit unterschiedlich positioniertem anomeren Hydroxyl: Obwohl die Anzahl der 2-Acetylaminopyranosen, deren Kristallstruktur bekannt ist, für eine statistische Untersuchung nicht ausreicht, ist doch bei entsprechenden

α -Anomeren ein ähnlicher Trend zur Entfernung von 120° erkennbar (s. Abb. 8). Da bezogen auf die Ebene der Acetylaminogruppe C(1) und C(3) spiegelsymmetrisch zueinander liegen, entsprechen beide Befunde dem gleichen Effekt eines durch die Axialständigkeit eines Nachbarsubstituenten weniger eingeschränkten Konformationsraumes einer Acetylaminogruppe.

Tabelle 7

Minima der N-Acetylitalosaminuronsäure in C1-Ringkonformation. Darstellung wie in Tabelle 3.

Nr.	x(1)	x(2)	x(3)	x(4)	x(5)	x(6)	ΔE
1	22	160	-172	63	-32	180	0.00
2	-30	160	-172	63	-32	180	0.00
3	-31	160	-89	60	-32	180	1.34
4	37	89	-88	60	-36	180	1.76
5	-31	160	-30	-172	-36	180	2.84
6	22	160	-30	-172	-36	180	2.88
7	37	89	-30	-171	-36	180	3.26
8	38	89	-30	-71	-36	180	3.80
9	-32	160	-30	-72	-36	180	3.97
10	23	160	-30	-72	-36	180	3.97
11	94	78	-87	60	-32	180	4.05
12	-172	155	-170	63	-32	180	5.31
22	-34	161	-173	86	155	180	20.82
45	-37	161	-48	-170	156	42	44.09

4.4.1.2. Übrige Seitengruppen

In allen Konformationen mit vertretbarer Energie war die Carboxylgruppe planar mit H(60) trans zu C(5), $\chi(6) = 180^\circ$. Die Ebene dieser - axial am Pyranosering befestigten - Gruppe erwies sich als sehr fixiert: Die einzigen gefundenen Werte für $\chi(5)$, ein enger Bereich um -32° und 155° , liegen etwa 180° auseinander und repräsentieren daher die gleiche Stellung der Carboxylebene relativ zum Zuckerring. $\chi(5) = -32^\circ$ (H(60) auf der Seite des Ringsauerstoffs) ist dabei deutlich bevorzugt; nachdem der Carboxylwasserstoff bei $\chi(6) = 180^\circ$ mit keinem Atom des Rings signifikant wechselwirkt, dürfte dies auf die geringere Partialladung von O(61) relativ zu O(62) und die daraus resultierende geringere Coulombabstoßung zu O(5) zurückzuführen sein.

Im Pseudomurein erfolgt die Verknüpfung zum Peptidteil über eine von dieser Carboxylgruppe gebildete Peptidbindung. Da diese Drehungen nur unter hohem Energieaufwand möglich sind, liegt die gesamte Verknüpfungsregion vom Saccharidringatom C(5) bis zum Alphakohlenstoffatom der ersten Aminosäure des Pentapeptids in einer Ebene, deren Lage relativ zum Saccharidring sehr rigide ist.

4.4.2. 1C-Ringkonformation

Generell sind bei substituierten aliphatischen Ringen diejenigen Ringkonformationen energiegünstiger, bei denen die jeweils sperrigsten Substituenten äquatoriale Positionen einnehmen. Für Hexopyranosen pfl egt die sperrigste Gruppe die an C(5) haftende Hydroxymethylgruppe oder - bei Uronsäuren - Carboxylgruppe zu sein. Bei Acetylaminopyranosen tritt die N-Acetylaminogruppe als zweite sperrige Gruppe hinzu. In Derivaten der Talopyranose sind die Substituenten an C(2) und C(5) immer gegenständig, so daß eine Entscheidung über die richtige Ringkonformation nicht prima facie wie etwa bei Glucosederivaten getroffen werden kann. Die bisher bekannt gewordenen Beispiele und die Inkremente für unterschiedlich substituierte

Pyranosen /35/ favorisieren für 2-Acetylamino- α -L-talosuronsäure die $1C$ - Konformation mit einem Energieabstand von mindestens 15 kJ/Mol zur α -C1-Form. Diese $1C$ -Konformation trüge allerdings, im Gegensatz zum Strukturvorschlag von Schleifer und Kandler /29/, die anomere Hydroxylgruppe in axialer Stellung.

Von jeder Hexopyranose in Sesselform existieren acht verschiedene Konformere mit gleicher relativer Anordnung der Ringsubstituenten, die nomenklaturtechnisch durch Auswahl aus den drei unabhängigen Merkmalpaaren D/L, α/β und $1C/C1$ -Ring charakterisiert werden können. Entsprechend ist so eine Hexopyranose erst durch drei unabhängige, eine binäre Entscheidung zulassende Angaben voll determiniert. Eindeutig durch experimentelle Ergebnisse belegt ist die Zugehörigkeit zur L-Reihe und die äquatoriale Positionierung von O(1), so daß der 'Freiheitsgrad' einer Angabe verbleibt: Eine Entscheidung zwischen der dem obengenannten Strukturvorschlag /29/ entsprechenden α -C1-Form und der vermutlich energiegunstigeren β -1C-Form steht noch aus. Aus diesem Grund sind in der vorliegenden Arbeit beide Möglichkeiten berücksichtigt worden.

4.4.2.1. N-Acetylgruppe

Im Molekül der $1C$ -BL-N-Acetyltalosaminuronsäure stehen die Substituenten an C(2) und C(4) axial. Die sperrigere dieser beiden Gruppen, die N-Acetylaminogruppe, wird durch die hieraus folgenden Wechselwirkungen auf zwei Positionsbereiche, $\chi(2)$ um 160° und um 90° , beschränkt. Das dritte Konformer, $\chi(2)$ nahe -60° , wäre durch eine zur Saccharidringmitte zeigende Acetylgruppe ausgezeichnet und tritt in keiner gefundenen Konformation auf.

Nachdem die beiden energiegunstigsten gefundenen Konformationen je eine der beiden Stellungen aufweisen und diese sich auch im weiteren Verlauf der nach Energie sortierten Konformationen abwechseln (Tabelle 3), dürften keine signifikanten energetischen Unterschiede zwischen ihnen bestehen. Beide Stellungen können durch Wasserstoffbrücken stabilisiert werden; $\chi(2) = 161^\circ$ korrespondiert mit $\chi(3) = 156^\circ$ zu einer Brücke zwischen O(7) und dem Hydroxyl am C(3) (Tabelle 9), im

anderen Fall zeigt der Aminwasserstoff auf O(4).

Das Molekül des N-Acetyl- β -D-Mannosamins in C1-Ringkonformation /120/ stellt bis auf die Stellung der Hydroxylgruppe an C(4) und der Oxydationsstufe von C(6) das Spiegelbild des vorliegenden Moleküls dar. Dort wurde $\chi(2)$ zu -127° gefunden, ein Wert, der nach Transformation des Vorzeichens eine Position etwa in der Mitte der beiden in TalANAc gefundenen Positionen beschreibt. Eine intramolekulare Wasserstoffbrücke der N-Acetylgruppe liegt indes im Mannosamin nicht vor.

Tabelle 8

Minima der N-Acetylalosaminuronsäure in 1C-Ringkonformation.
Darstellung wie in Tabelle 3.

Nr.	x(1)	x(2)	x(3)	x(4)	x(5)	x(6)	ΔE
1	37	161	156	-64	-85	180	0
2	-158	80	40	-63	-84	180	2.42
3	-158	79	-172	-63	-84	180	2.48
4	-158	79	-67	-63	-84	180	2.51
5	-27	97	53	-63	-85	180	2.85
6	35	96	53	-63	-85	180	3.19
7	168	161	156	-63	-85	180	4.24
11	37	161	157	176	23	180	5.27
12	33	161	157	175	-154	180	5.53
13	37	141	48	-63	-85	180	5.59
16	-15	144	-68	-63	-85	180	8.66
20	33	161	156	-89	-148	180	11.27
21	37	161	156	-94	30	180	11.35
22	42	161	157	177	22	-2	11.58
23	-158	79	-171	-166	28	180	11.59
38	-24	95	-172	-169	-18	180	14.72
40	-27	99	70	-153	28	180	14.88
51	38	162	157	24	-142	180	15.75
52	41	162	157	24	39	180	15.88
66	37	161	156	-66	-70	14	18.59

4.4.2.2. Übrige Seitengruppen

Der zweite große Substituent, die Carboxylgruppe an C(5), steht äquatorial, was sich in einer gegenüber dem C1-Konformer erhöhten Anzahl möglicher Positionen äußert (Tabelle 8): der Peptidteil hat hier eine wesentlich flexiblere Anknüpfung an den Saccharidring als im C1-Fall.

Die Carboxylgruppe kann auf zwei Arten, charakterisiert durch $\chi(4)$, $\chi(5) = (-60^\circ, -85^\circ)$ und $(24^\circ, -140^\circ)$, mit der axialen Hydroxylgruppe an C(4) in Wechselwirkung treten. Die relative Lage der beteiligten Atome ist vergleichbar; die beiden Wasserstoffbrücken liegen wie Bild und Spiegelbild auf beiden Seiten der durch C(4), O(4) und C(6) definierten Ebene. Sie sind dennoch nicht gleichwertig; während die erste in der besten gefundenen Konformation auftritt, trifft man die zweite nicht innerhalb eines Energieintervalls von 15.75 kJ/Mol zur ersten an (Konformation 51 der Tabelle 8). Offensichtlich überwiegen im zweiten Fall, in dem die Atome der Wasserstoffbrücke über dem Ring und nicht an dessen Peripherie liegen, die abstoßenden Wechselwirkungen zu anderen Ringatomen, besonders zwischen dem stärker geladenen Carboxylsauerstoff O(62) und O(5).

Auch im 1C-Konformeren ist die Carboxylgruppe selbst in der Regel trans-planar aufgebaut. Die einzige aufgefundene Ausnahme (Konformation 22 in Tabelle 8) mit einem Torsionswinkel $\chi(6)$ von -2° ist annähernd cis-planar aufgebaut; der Einfluß des Torsionspotentials ist also ebenfalls gering, die energetisch günstige Wechselwirkung zwischen H(60) und O(62) wird aber ersetzt durch die Wechselwirkung zwischen H(60) und O(5).

Für die Betrachtung des vollständigen Pseudomureinmoleküls ist diese Konformation von einem gewissen Interesse, obwohl ihr Energiegehalt mindestens 11.59 kJ/Mol über dem der günstigsten gefundenen Konformation liegt, da die Verknüpfung zum Peptidteil über diese Gruppe erfolgt und die hierfür ausgebildete Peptidverknüpfung in den günstigsten Fällen sicherlich wie in der überwiegenden Mehrzahl derartiger Fälle trans-planar ausgebildet sein dürfte; mit anderen Worten, der Amidwasserstoff würde in etwa die Position von H(60) in

dieser Konformation einnehmen.

Tabelle 9

Parameter der Wasserstoffbrücken in Monosacchariden.

Nr.(i): Energiegunstigstes Auftreten in angegebenen Konformer in
Tabelle i. E [kJ/Mol] Energie dieses Konformers relativ zum jeweilig
gefundenen globalen Minimum. d [nm] Abstände zwischen Atomen, w
[Grad] Winkel mit dem mittleren angegebenen Atom als Scheitel.

N-Acetylglucosamin

1000 1001 1002 1003 1004 1005 1006 1007 1008 1009 1010 1011 1012 1013 1014 1015 1016 1017 1018 1019 1020

Brücke							
x...H - y	Nr(3)	E	d(H...x)	d(x - y)	w(yHx)	w(xyH)	w(Hxy)
0(4)H(60)0(6)	1	0	0.198	0.272	128.4	34.8	16.7
0(7)H(30)0(3)	1	0	0.176	0.255	133.2	30.2	16.6
0(5)H(60)0(6)	5	1.17	0.239	0.277	101.4	57.9	20.7
0(6)H(40)0(4)	7	2.17	0.193	0.262	123.3	38.0	18.6

N-Acetyltalosaminuronsäure-C1

400 450 500 550 600 650 700 750 800 850 900 950 1000 1050 1100 1150 1200 1250 1300 1350 1400 1450 1500 1550 1600 1650 1700 1750 1800 1850 1900 1950 2000 2050 2100 2150 2200 2250 2300 2350 2400 2450 2500 2550 2600 2650 2700 2750 2800 2850 2900 2950 3000 3050 3100 3150 3200 3250 3300 3350 3400 3450 3500 3550 3600 3650 3700 3750 3800 3850 3900 3950 4000 4050 4100 4150 4200 4250 4300 4350 4400 4450 4500 4550 4600 4650 4700 4750 4800 4850 4900 4950 5000 5050 5100 5150 5200 5250 5300 5350 5400 5450 5500 5550 5600 5650 5700 5750 5800 5850 5900 5950 6000 6050 6100 6150 6200 6250 6300 6350 6400 6450 6500 6550 6600 6650 6700 6750 6800 6850 6900 6950 7000 7050 7100 7150 7200 7250 7300 7350 7400 7450 7500 7550 7600 7650 7700 7750 7800 7850 7900 7950 8000 8050 8100 8150 8200 8250 8300 8350 8400 8450 8500 8550 8600 8650 8700 8750 8800 8850 8900 8950 9000 9050 9100 9150 9200 9250 9300 9350 9400 9450 9500 9550 9600 9650 9700 9750 9800 9850 9900 9950 10000

Brücke

X...H - y	Nr(7)	E	d(H...x)	d(x - y)	w(yHx)	w(xyH)	w(Hxy)
O(3)H(40)O(4)	1	0	0.238	0.276	101.2	57.9	20.8
O(62)H(40)O(4)	1	0	0.178	0.253	128.6	33.4	18.0
O(3)H(20)N(2)	4	1.76	0.238	0.280	104.1	55.6	20.3
O(4)H(30)O(3)	5	2.84	0.223	0.276	111.4	48.9	19.7
O(7)H(10)O(1)	11	4.05	0.182	0.255	126.6	35.0	18.4
O(61)H(30)O(3)	45	44.09	0.210	0.252	102.3	54.8	22.9

N-Acetyltalosaminuronsäure-1C

Brücke							
x...H - y	Nr(B)	E	d(H...x)	d(x - y)	w(yHx)	w(xyH)	w(Hxy)
O(7)H(30)O(3)	1	0	0.181	0.254	127.3	34.4	18.2
O(4)H(20)N(2)	2	2.42	0.199	0.276	132.0	32.3	15.6
O(4)H(30)O(3)	2	2.42	0.227	0.277	109.6	50.5	19.9
O(7)H(10)O(1)	2	2.42	0.189	0.258	124.0	37.3	18.7
O(3)H(40)O(4)	11	5.27	0.237	0.277	103.0	56.4	20.6
O(5)H(60)O(6)	22	11.58	0.189	0.252	118.3	41.3	20.5
N(2)H(30)O(3)	40	14.88	0.235	0.279	105.5	54.2	20.2
O(62)H(40)O(4)	51	15.76	0.239	0.288	109.9	51.0	19.0
O(61)H(4)O(4)	52	15.88	.248	0.274	113.5	46.9	19.6

4.5. Dimere mit N-Acetylalosaminuronsäure-C1

4.5.1. N,N'-Diacetylalosaminuronylglucosamin

Die bei der Untersuchung des Dimers des N-Acetylglucosamins in β -1,3-Verknüpfung berechnete Ramachandranmap (Abb. 2) unterscheidet sich nicht wesentlich von der des allC1-N,N'-Diacetyl-talosaminuronylglucosamins (Abb. 4,11). Da beide Moleküle sich nur in Einzelheiten unterscheiden, die wenig Einfluß auf die Struktur der glykosidischen Bindung haben, ist dieses Ergebnis zu erwarten. Den in Kapitel 4.2.2. enthaltenen Ausführungen ist insoweit nichts hinzuzufügen.

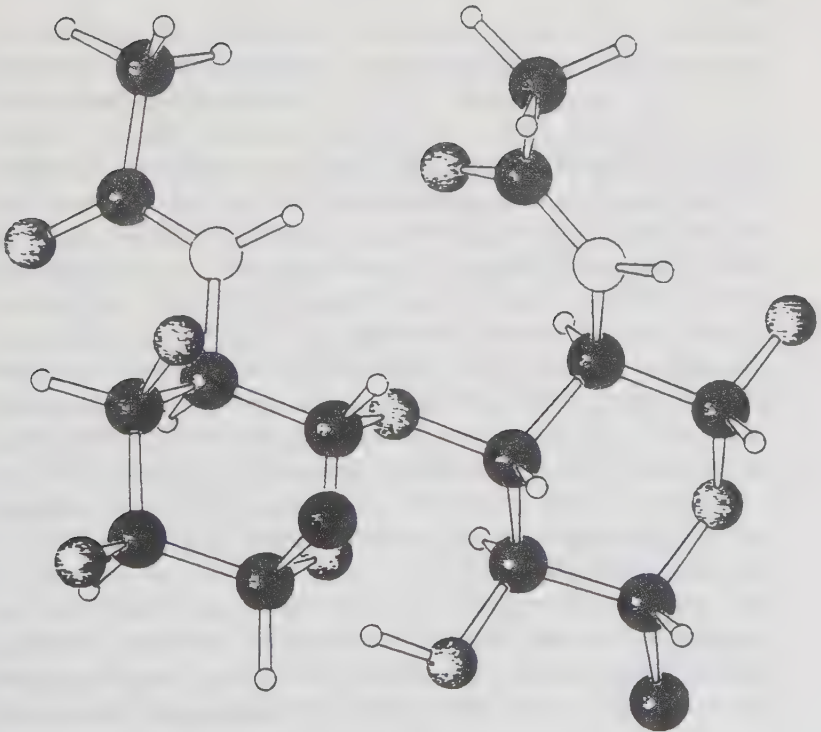
Tabelle 10

Minima des N,N'-Diacetylalosaminuronyl-C1-1,3-glucosamins.
Darstellung wie in Tabelle 3.

Nr.	ϕ	ψ	$\chi(2)$	$\chi(2')$	$\chi(4')$	ΔE
1	-60	112	162	150	169	0.00
2	-67	113	88	94	169	4.35
3	-75	111	160	94	172	5.31
4	-59	121	163	149	-87	8.82
5	-71	126	88	96	-87	12.58
11	-100	76	163	87	-144	16.72
12	-115	78	158	99	-88	19.52
19	38	130	164	88	-157	27.21
23	18	140	110	91	-164	30.08

Abbildung 11

Energieniedrigste gefundene Konformation des
N,N'-Diacetyltalosaminuronyl- C1-1,3-glucosamins (Nr. 1 der Tabelle
10)



4.5.2. N,N'-Diacetylglucosaminyltalosaminuronsäure

Das andere β -1,3-verknüpfte Dimer, allC1-N,N'-Diacetylglucosaminyltalosaminuronsäure, besitzt dagegen eine grundsätzlich andere Struktur; wegen der axialen Hydroxylgruppe in C1-konfigurierten Talosederivaten ist hier die glykosidische Brücke 1-äquatorial-3-axial aufgebaut. Eine solche Brücke ist sehr selten. Der Aufbau der Ramachandranmap dieses Moleküls (Abb. 3) unterscheidet sich dennoch nicht prinzipiell von dem der bisher behandelten, indem auch hier zwei Minimumgebiete gefunden werden, deren größeres durch eine niedrige Barriere zweigeteilt wird und das globale Minimum enthält.

In Kapitel 4.2.2. wurde gezeigt, daß eine gleichartige relative Lage der unmittelbar an der glykosidischen Bindung beteiligten Atome im Falle einer diäquatorialen 1,3- und 1,4-Verknüpfung dann erreicht wird, wenn in einem dieser Fälle ein Saccharidring um 180° gedreht wird. Führt man diese Überlegungen weiter, so zeigt sich, daß ebenso wie der Übergang von geraden zu ungeraden x in der 1,x-Verknüpfung auch der Übergang von äquatorialer zu axialer Verknüpfung durch eine solche Drehung so kompensiert werden kann, daß sich gleichartige Brückenstrukturen ergeben: Bei einem C(3) mit idealisierter tetraedrischer Substitution entspricht der Wechsel von äquatorialem und axialem Hydroxyl einer Spiegelung der Position des O(3) an der durch C(2), C(3), C(4) gegebenen Ebene. Da nun die dazu senkrechte Ebene durch O(3), H(3) und C(3) als Symmetrieebene aufgefaßt werden kann, weil die jeweils äquatorial substituierten Atome C(2) und C(4) im Hinblick auf die glykosidische Bindung sterisch fast gleichwertig sind, entspricht diese Spiegelung einer Drehung so, daß C(2) und C(4) ihre Plätze vertauschen.

Wenn die Wechselwirkungen zwischen den unmittelbar an der glykosidischen Brücke beteiligten Atomen den größten Einfluß auf die Brückenstruktur haben, wie durch die gleichartigen Ramachandranmaps bei den drei bisher behandelten unterschiedlichen Brückentypen suggeriert wird, müßte daher die relative Lage der beiden Ringe bei äquatorial-axialer 1,3-Verknüpfung die gleiche wie bei diäquatorialer 1,4-Verknüpfung sein, das heißt, bei Konformationen des Gebiets I

liegen die Oberseiten der Saccharidringe auf verschiedenen Seiten des Moleküls und die N-Acetylgruppen weisen in etwa entgegengesetzte Richtungen, während bei Konformationen des Gebiets II gerade im Gegenteil die N-Acetylgruppen nahe benachbart sein sollten.

Die im Minimierungslauf gefundenen Konformationen (Tabelle 11) bestätigen diese Vermutungen. Die energiegunstigsten von ihnen (Abb. 12) bei gleichartigem Aufbau sind durch eine Wasserstoffbrücke zwischen dem Amid $N(2')-H(20')$ und dem Ringsauerstoff $O(5)$ stabilisiert, wobei also, aus Gebiet 1, die Amidgruppe die Hydroxylgruppe an $C(3)$ im β -1,4-Fall ersetzt. Infolge der axialen Anknüpfung an $C(3')$ nehmen die Atome $C(1)$ und $C(5)$ hier im β -1,3-Fall topologisch die Plätze der Atome $H(3)$ und $H(5)$ im β -1,4-Fall ein, die Ringebenen der beiden Pyranoside stehen fast senkrecht aufeinander und formen durchaus nicht eine flache, gestreckte Struktur wie in den bisher behandelten Molekülen.

Ein Vergleich der energieniedrigsten gefundenen Konformation (Nr. 1 in Tabelle 11) mit denen der bisher behandelten Disaccharide anderer Struktur an der glykosidischen Brücke (Nr. 1 der Tabellen 4 und 7) zeigt, daß die räumliche Anordnung aller unmittelbar von den beiden glykosidischen Torsionswinkeln abhängigen Atome, also $C(1)$, $C(2)$, $O(5)$, $H(1)$, $O(1)$, $C(3')$, $C(4')$ und entweder $C(2')$ und $H(3')$ in den 1,3-Fällen oder $H(4')$ und $C(5')$ bei 1,4-Verknüpfung, praktisch deckungsgleich ist (Abb. 13). Diese Anordnung ist dadurch gekennzeichnet, daß eine Ebene so gelegt werden kann, daß sie alle zwischen Nicht-Wasserstoffatomen verlaufenden Bindungen im Bereich der oben aufgezählten Atome schneidet. Die beiden dem glykosidischen Sauerstoff unmittelbar benachbarten Kohlenstoffatome liegen zusammen mit ihren Wasserstoffen - die beide in ungefähr die gleiche Richtung zeigen - auf der einen Seite dieser Ebene, die übrigen fünf Atome auf der anderen. Diese fünf Atome bilden also das Muster der Fünf auf dem Würfel, daher soll dieses Konformationsbild kurz Quincunx genannt werden. Die beiden in der Gruppierung enthaltenen Wasserstoffatome liegen infolge der Abstoßung zwischen ihnen nicht in einer Ebene mit den an sie gebundenen Kohlenstoffatomen; diese vier Atome bilden vielmehr einen Pseudo-Torsionswinkel von $60-70^\circ$, um den also auch die

ganze Quincunx verdreht ist.

Es liegt der Schluß nahe, daß diese Struktur die bestmögliche für eine glykosidische Brücke zwischen zwei Pyranosen ist, wenn nicht spezielle Effekte, etwa der Wechselwirkung von Seitengruppen beider Ringe aufeinander, einen Einfluß nehmen.

Tabelle 11

Minima der N,N'-Diacetylglucosaminy1-1,3-talosaminuronsäure-C1.
Darstellung wie in Tabelle 3.

Nr.	ϕ	ψ	X(2)	X(2')	X(4')	ΔE
1	-74	-107	149	162	-73	0.00
2	-74	-107	149	162	-165	0.00
3	-62	-110	104	160	-73	2.28
4	-61	-110	104	160	-167	2.42
5	-72	-119	149	88	-72	2.47
6	-72	-119	149	88	-169	3.18
7	-67	-120	107	88	-72	3.68
9	-69	-122	108	88	79	6.69
17	-125	-141	150	150	-70	16.39
22	28	-98	157	91	178	25.60
24	-119	-156	96	130	60	31.54

Abbildung 12

Energieniedrigste gefundene Konformation der N,N'-Diacetylglucosaminyll-
1,3-talosaminuronsäure-C1 (Nr. 1 der Tabelle 11)

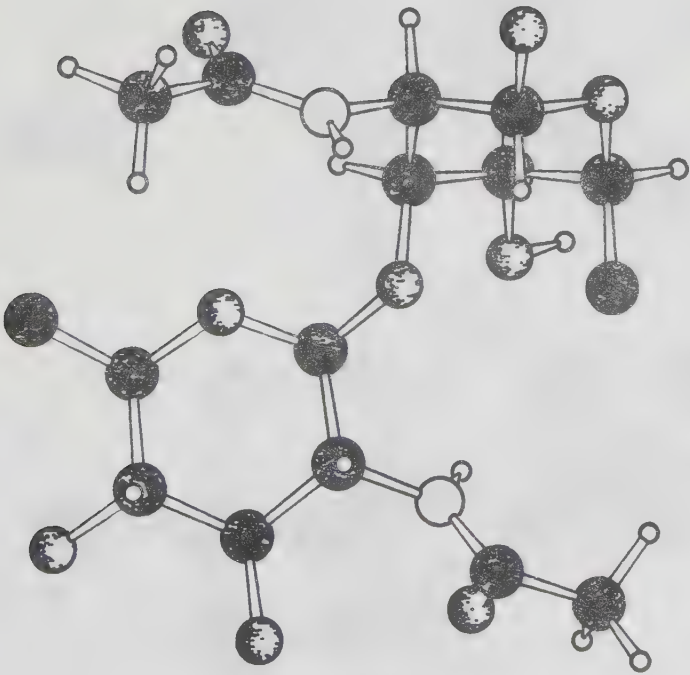
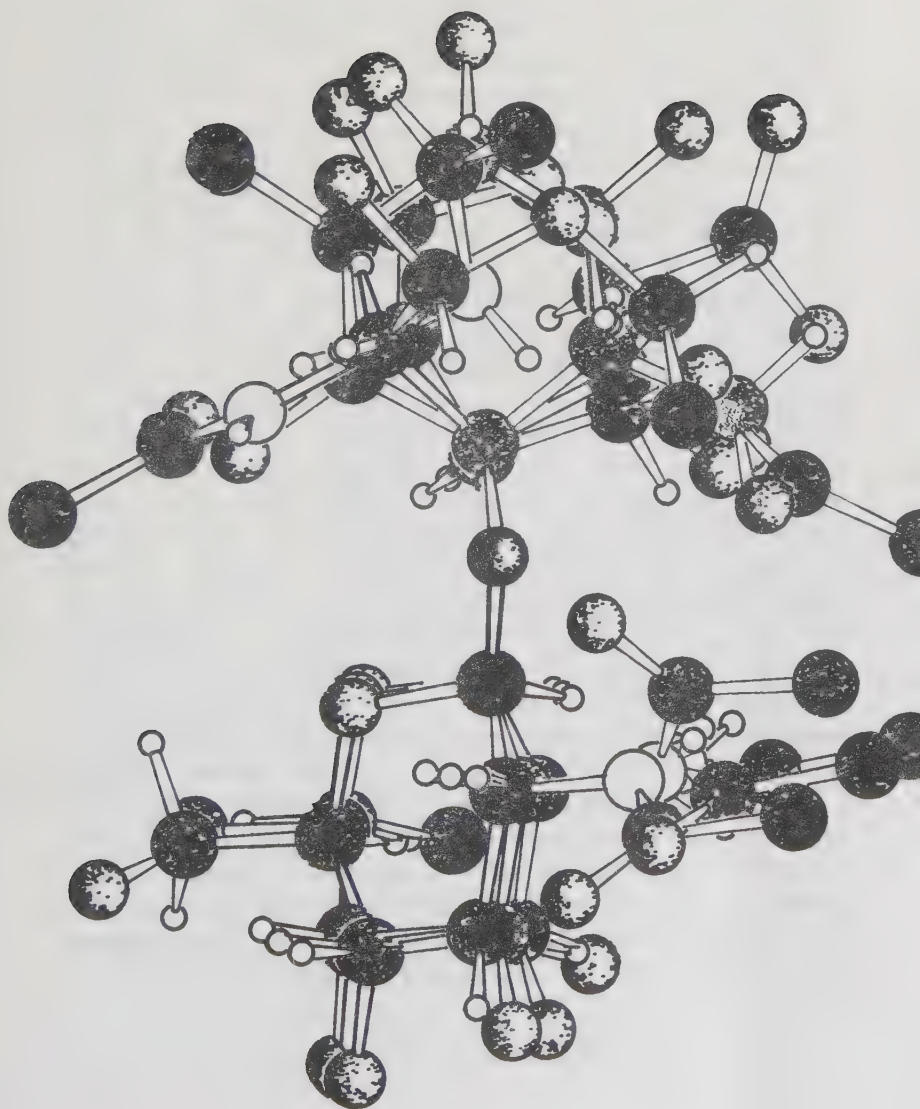


Abbildung 13

Bild der Minimalenergiekonformationen der N,N'-Diacetylchitobiose, des N,N'-Diacetylalosaminuronyl-C1-1,3-glucosamins, der N,N'-Diacetylglucosaminyl-1,3-talosaminuronsäure-C1 sowie der Konformation 7 (Tabelle 12) der N,N'-Diacetylglucosaminyl-1,3-talosaminuronsäure-1C. Die vier Disaccharide sind so übereinander geschoben worden, daß O(1) und die beiden an diesem Atom hängenden Kohlenstoffatome zur Deckung kommen. Die glykosidischen Brücken zeigen praktisch identische Quincunces (vgl. Kapitel 4.5.2.). Einige Seitengruppen sind zur besseren Übersichtlichkeit nicht mit allen Atomen dargestellt worden.

Abbildung 13



4.6. Oligomere mit N-Acetylalosaminuronsäure-1C

4.6.1. N,N'-Diacetylglucosaminytalosaminuronsäure

Die Ramachandranmap der N,N'-Diacetyl-glucosaminyl-1,3-talosaminuronsäure mit letzterer in 1C-Konfiguration (Abb. 5) unterscheidet sich auf den ersten Blick stark von denen der bisher behandelten Dimeren. Dessenungeachtet weist das energieniedrigste Minimum (Abb. 14) eine Quincunxkonformation auf; sie wird durch eine Wasserstoffbrücke zwischen der Hydroxylgruppe an C(6) und dem Carbonylsauerstoff der Acetylgruppe O(7') stabilisiert (Tabelle 14). Dies ist die einzige interresiduale gefundene Wasserstoffbrücke. Die Verdrillung der Quincunx, gemessen am Pseudo-Torsionswinkel $H(1) C(1) C(3') H(3')$ ist nahe Null. Neben dem map-Punkt $(\phi, \psi) = (-95^\circ, -160^\circ)$, dem Ort der Bestkonformation, ist der nahe benachbarte Punkt $(\phi, \psi) = (-120^\circ, -160^\circ)$ Häufungspunkt energie günstiger Konformationen. Das Umfeld dieser beiden Punkte bildet ein relativ kleines Minimumgebiet in der map, das von einem größeren im Energielevel etwa 9 kJ/Mol höheren Gebiet durch eine Potentialschwelle getrennt ist (Abb. 5). In letzterem häufen sich die Minimalkonformationen um $(\phi, \psi) = (-75^\circ, -95^\circ)$. Auch diese Konformationen weisen eine Quincunx auf, die aber, ähnlich wie die besten Minima früher behandelter Dimere und im Gegensatz zum oben erwähnten Bestwert eine Verdrillung mit einem Pseudo-Torsionswinkel $H(1) C(1) C(3') H(3')$ von etwa 60° aufweisen. Offensichtlich entspricht der gesamte in der Ramachandranmap als Minimalgebiet ausgewiesene Bereich dem Gebiet I in früher behandelten maps. Hypothetische Konformationen eines Gebiets II wären so energiereich, daß dieses Gebiet in der map nicht mehr erscheint. Während weiterhin in den bisher behandelten Disacchariden die Bestkonformation - stabilisiert durch eine Wasserstoffbrücke zwischen O(5) und einer Hydroxyl- oder Amidgruppe des reduzierenden Residuums - im durch größere (ϕ, ψ) -Winkelwerte ausgezeichneten Untergebiet von Gebiet I lag, wird hier das andere Untergebiet durch eine Wasserstoffbrücke begünstigt und enthält die energetisch niedrigsten Konformationen.

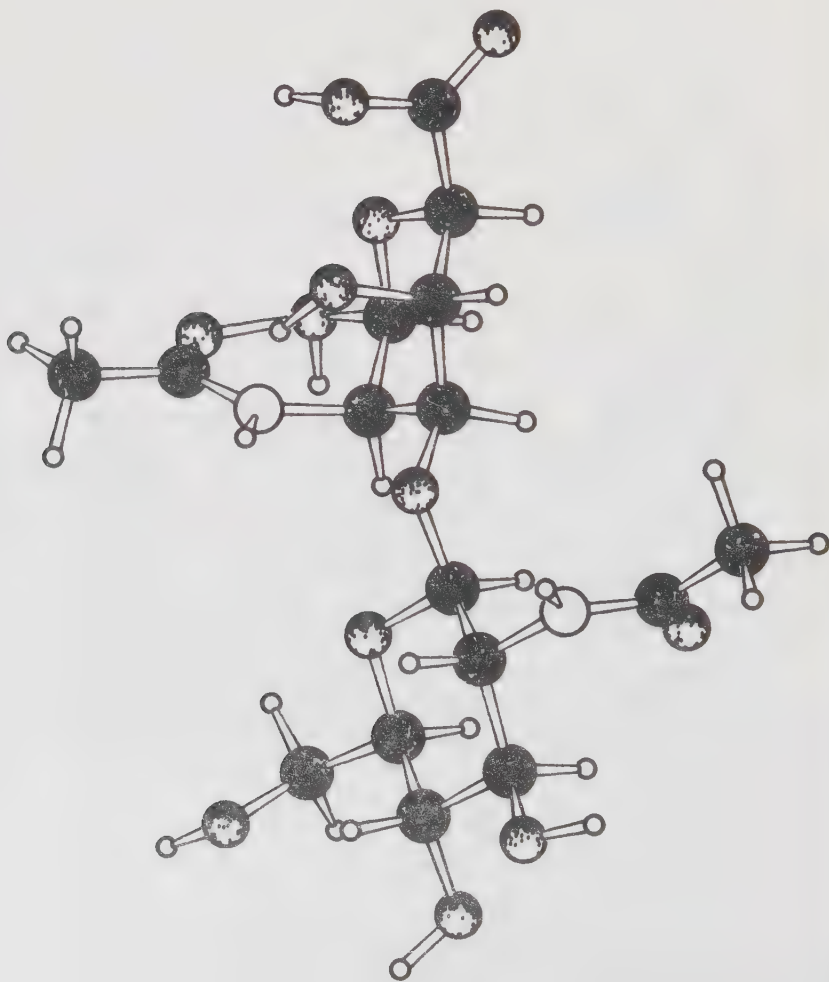
Tabelle 12

Minima der N,N'-Diacetylglucosaminyl-1,3-talosaminuronsäure-1C.
Darstellung wie in Tabelle 3.

Nr.	ϕ	ψ	x(2)	x(3)	x(4)	x(5)	x(6)	x(4')	x(5')	x(6')	x(1)	x(2')	ΔE
1	-93	-162	162	-104	-178	70	-74	-64	-84	180	32	94	0
2	-95	-163	87	-62	-177	71	-72	-64	-84	180	29	94	4.78
3	-93	-164	87	-62	-178	70	-74	-64	-84	179	-176	91	6.41
4	-119	-161	90	-62	-177	69	-51	-64	-85	180	31	116	7.75
5	-93	-162	162	-104	-178	69	-74	-170	27	180	31	95	8.44
6	-93	-162	162	-104	-178	70	-74	-170	-153	180	-24	96	9.07
7	-74	-93	162	-104	-179	173	56	-63	-84	180	37	150	9.39
11	-74	-93	162	-104	-178	60	-179	-63	-84	180	38	150	10.25
13	-75	-93	162	-104	-177	-57	57	-63	-84	180	37	150	10.63
16	-60	-130	162	-104	-179	172	56	-63	-84	180	37	149	10.93
24	-74	-93	162	-104	-178	60	72	-63	-84	180	38	150	12.47
26	-121	-160	89	-61	-177	68	-51	-178	28	180	30	119	12.94
37	-95	-163	-61	-61	-179	71	-71	-63	-84	180	34	95	13.81
45	-77	-92	87	-61	-65	-178	180	-64	-83	180	35	149	14.17
56	-115	-166	161	-105	-178	38	37	-64	-84	180	-31	103	15.16
82	-75	-94	162	-105	-179	173	56	173	-20	180	37	150	18.03
106	-61	-132	84	-61	-177	-57	54	171	-155	180	29	149	19.79

Abbildung 14

Energieniedrigste gefundene Konformation der N,N'-Diacetylglucosaminy-1,3-talosaminuronsäure-1C. (Nr. 1 der Tabelle 12)



4.6.2. N,N'-Diacetylalosaminuronylglucosamin

Die Ramachandranmap des zweiten Disaccharids aus den gleichen Monomeren, N,N'-Diacetyl-talosaminuronyl-1,3-glucosamin mit dem Talosederivat in 1C-Konformation, zeigt zwei Minimumgebiete (Abb. 6). Alle gefundenen Minimalkonformationen mit einer Energie relativ zu ihrer niedrigsten von unter 20 kJ/Mol (Tabelle 13) liegen allerdings alle in einem der beiden, gehäuft entlang der Geraden $\phi + \psi = 180^\circ$ im Bereich des Punktes $(\phi, \psi) = (65^\circ, 115^\circ)$. Auch diese Konformationen weisen wie alle bisher behandelten energieniedrigsten Konformationen die Quincunx auf.

Die Verdrillung der glykosidischen Bindung, der Pseudo-Torsionswinkel $H(1) C(1) C(3') H(3')$, beträgt etwa -60° , weist also ein bisher nicht gefundenes negatives Vorzeichen auf. Betrachtet man ein Modell dieses Moleküls (Abb. 15) im Vergleich mit einem der oben erwähnten Substanz, N,N'-Diacetyl-glucosaminyl-1,3-talosaminuronsäure (1C) in einer Konformation mit einer Verdrillung von $+60^\circ$, also etwa mit $(\phi, \psi) = (-75^\circ, -95^\circ)$ wie in Abbildung 13, indem man diese beiden Modelle so hält, daß die Positionen der Carboxylgruppen und der axialen Acetylaminogruppen des jeweiligen Talosuronsäureresiduums sowie die beiden glykosidischen Sauerstoffatome wie Bild und Spiegelbild angeordnet sind, - das ist zum Beispiel bei einer antiparallelen Anordnung der beiden Dimeren der Fall - so sind auch die Acetylaminogruppen der Glucoseresiduen und darüber hinaus alle Pyranoseringe wie Bild und Spiegelbild angeordnet; letzteres mit der Einschränkung, daß die Saccharidringe zu Cyclohexanringen idealisiert werden.

Wenn so in dieser Anordnung beider Disaccharide alle großen Seitengruppen und die Positionen aller Ringatome quasi als Bild und Spiegelbild vorliegen, was nur durch Inversion des glykosidischen Pseudotorsionswinkels zu bewerkstelligen ist, und eines der beiden Disaccharide zwar nicht das globale Minimum, aber doch eine energiegunstige Konformation einnimmt, ist nicht zu verwundern, daß das andere auch in der Energie günstig liegt.

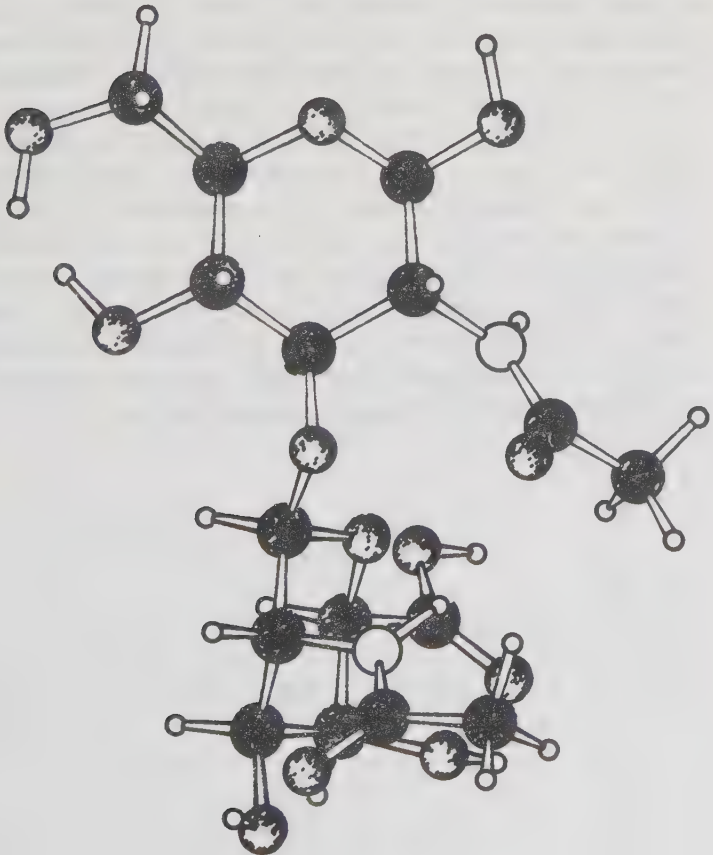
Tabelle 13

Minima des N,N'-Diacetylalosaminuronyl-1C-1,3-glucosamins.
Darstellung wie in Tabelle 3.

Nr.	ϕ	ψ	$\chi(2)$	$\chi(3)$	$\chi(4)$	$\chi(5)$	$\chi(6)$	$\chi(4')$	$\chi(5')$	$\chi(6')$	$\chi(1')$	$\chi(2')$	ΔE
1	68	111	161	156	-63	-84	180	-163	172	56	-31	153	0
2	64	120	161	156	-64	-84	180	-65	-177	-179	40	87	4.64
4	68	109	161	156	-63	-85	180	-98	57	68	-29	154	6.03
5	64	120	161	156	-63	-85	180	-170	173	56	94	77	6.28
6	68	110	161	156	-63	-84	180	59	-60	180	24	154	6.83
8	74	110	92	-173	-63	-84	180	-163	173	56	-28	147	7.33
9	68	104	161	157	174	-157	180	-154	172	56	23	153	7.69
10	63	120	90	-173	-64	-84	180	-170	173	56	40	87	7.80
11	64	120	161	156	-64	-84	180	-98	-59	60	40	87	8.62
12	62	120	161	157	177	-18	180	-170	173	56	39	87	9.64
13	63	120	93	52	-63	-84	180	-100	-59	59	40	87	9.85
14	63	120	89	-68	-63	-84	180	-68	-179	-74	41	87	9.90
15	63	118	161	157	175	-160	180	-169	173	180	94	77	10.08
17	63	120	161	156	-64	-85	180	-170	173	56	-158	90	10.98
18	63	117	161	157	176	24	179	-168	173	56	94	77	11.01
20	68	103	161	157	174	-157	180	57	56	-57	24	154	11.65
37	63	117	161	156	-95	24	180	-168	173	56	94	77	17.16
38	67	108	161	156	-85	-29	6	-160	172	56	22	153	17.98
43	72	106	161	156	-63	-86	179	-159	172	55	-39	-61	18.58
44	69	104	162	157	23	-135	180	-153	60	-179	19	155	18.77
57	132	144	105	-173	-63	-88	179	-170	173	55	27	121	22.87
88	63	106	161	156	-69	-58	25	-156	172	55	-39	-63	28.97

Abbildung 15

Energieniedrigste gefundene Konformation des
N,N'-Diacetyltalosaminuronyl-1C-1,3-glucosamins (Nr. 1 der Tabelle
13)



Hinzu kommt eine Stabilisierung durch gleich zwei mögliche Wasserstoffbrücken: Während Konformationen mit (ϕ, ψ) in der Nähe von $(70^\circ, 110^\circ)$ eine Brücke zwischen den beiden Acetylaminogruppen $O(7') \dots H(20)N(2)$ ausbilden können (Tabelle 13), dazu sind Torsionswinkel $(\chi(2), \chi(2'))$ um $(160^\circ, 150^\circ)$ erforderlich, weisen Konformationen um $(\phi, \psi) = (60^\circ, 120^\circ)$ eine Brücke zwischen der Amidgruppe des reduzierenden Residuums und dem Ringsauerstoff des nichtreduzierenden Residuums auf. Diese zweite Brücke ist also von der in energiearmen Disaccharidkonformationen häufig anzutreffenden Art einer Wechselwirkung zwischen $O(5)$ und der ein acids H tragenden Seitengruppe des gegenüberliegenden Kohlenstoffatoms der Quincunx.

Konformationen im zweiten, kleineren Minimumgebiet der Ramachandranmap (Abb. 6) mit einer glykosidischen Brücke (ϕ, ψ) um $(135^\circ, 145^\circ)$ zeigen die 'normale' Quincunx und einen Pseudo-Torsionswinkel von $+60^\circ$. Keine dort anzusiedelnde Konformation stellt allerdings ein ausgeprägtes lokales Minimum dar, so daß dieses Gebiet in der Tabelle 13 nicht repräsentiert ist. Offensichtlich liegt hier ein Fall vor, in dem die grundsätzliche Struktur der glykosidischen Bindung, die zumeist eine Quincunx mit positiven, um 60° liegendem Pseudo-Torsionswinkel darstellt, durch die besonderen Einflüsse einer speziellen Seitengruppenanordnung (hier die Paarung äquatorial/axial positionierter Acetylaminogruppen) verändert wurden.

Tabelle 14

Parameter der interresidualen Wasserstoffbrücken in Disacchariden.
Darstellung wie in Tabelle 9.

N,N'-Bisacetylaminolaminarabiose

Brücke							
x...H - y	Nr(5)	E	d(H...x)	d(x-y)	w(yHx)	w(xyH)	w(Hxy)
0(5)H(40')0(4')	1	0	0.193	0.267	129.1	34.0	16.9
0(7')H(20)N(2)	4	8.90	0.237	0.302	121.9	41.8	16.3
0(5)H(20')N(2')	29	27.67	0.196	0.267	125.9	36.5	17.6
0(7')H(40)0(4)	33	29.26	0.169	0.255	141.9	24.1	14.0

N,N'-Diacetyl-chitobiose

Brücke x...H - y	Nr(4)	E	d(H...x)	d(x-y)	w(yHx)	w(xyH)	w(Hxy)
O(5)H(30')O(3')	1	0	0.192	0.267	130.1	33.2	16.6
O(6')H(20')N(2)	2	0.63	0.210	0.287	133.1	32.2	14.7
O(7)H(30')O(3')	55	40.74	0.170	0.251	134.7	28.8	16.4

N,N'-Diacetylglucosaminyl-1,3-talosaminuronsäure-C1

Brücke							
x...H - y	Nr(11)	E	d(H...x)	d(x-y)	w(yHx)	w(xyH)	w(Hxy)
0(5)H(20')N(2')	3	2.28	0.208	0.290	137.1	29.3	13.6
0(7)H(40')O(4')	24	31.54	0.179	0.257	131.7	31.4	16.9

N,N'-Diacetylalosaminuronyl-C1-1,3-glucosamin

Brücke							
x...H - y	Nr(10)	E	d(H...x)	d(x-y)	w(yHx)	w(xyH)	w(Hxy)
0(5)H(40')0(4')	1	0	0.193	0.268	129.6	33.6	16.7
0(7')H(20)N(2)	1	0	0.235	0.303	125.0	39.3	15.7
0(5)H(20')N(2')	19	27.21	0.193	0.264	125.4	36.6	18.0
0(7')H(40')0(4')	23	30.08	0.169	0.255	142.1	24.0	13.9

N,N'-Diacetylglucosaminy-1,3-talosaminuronsäure-1C

Brücke							
x...H - y	Nr(12)	E	d(H...x)	d(x-y)	w(yHx)	w(xyH)	w(Hxy)
0(7')H(60)0(6)	1	0	0.168	0.267	173.7	3.9	2.3

N,N'-Diacetyltañosaminuronyl-1C-1,3-glucosamin

Brücke							
x...H - y	Nr(13)	E	d(H...x)	d(x-y)	w(yHx)	w(xyH)	w(Hxy)
0(7')H(20)N(2)	1	0	0.220	0.307	143.9	25.0	11.1
0(5)H(20')N(2')	2	4.64	0.206	0.275	124.3	38.3	17.5
0(7)H(40')O(4')	57	22.87	0.168	0.257	145.9	21.5	12.5
0(7)H(60')O(6')	88	28.97	0.186	0.269	139.1	26.8	14.1

4.6.3. N,N',N''-Triacetylglucosaminyltalosaminuronylglucosamin

Bildet man ein Modell des Trisaccharids GlcNAc-1,3-TalANAc1C-1,3-GlcNAc durch Kombination der energiegunstigsten Konformationen der beiden zugrundeliegenden Dimere (also die Kombinationen 1 der Tabellen 12 und 13), können die Positionen aller Seitengruppen der beiden Glucosaminresiduen und die Torsionswinkel der beiden glykosidischen Brücken unverändert übernommen werden. Auch die Hydroxylgruppe an C(4) und die Carboxylgruppe an C(5) der Talosaminuronsäure kann problemlos in das Trimer übernommen werden, da diese Gruppen fast identische Stellungen in den Dimeren innehatten. Die letzte noch verbleibende Gruppe dagegen, die N-Acetylgruppe des mittleren Residuums, nimmt infolge verschiedener interresidualer Wechselwirkungen in den Dimeren (Tab. 14) unterschiedliche Konformationen mit $\chi(2) = 94^\circ$ und 161° an. Diese beiden Werte für $\chi(2)$ sind also knapp 70° voneinander entfernt; es könnte sein, daß eine mittlere Position mit $\chi(2)$ der N-Acetyltalosaminuronsäure um 150° zusammen mit kleinen Änderungen der glykosidischen Torsionswinkel zur gleichzeitigen Ausbildung von zwei Wasserstoffbrücken und damit zu einem Brückensystem $O(6)H(60) \dots O(7')C(7')N(2')H(2') \dots O(7'')$ führt, das drei aufeinanderfolgende Residuen der Kette und somit das ganze Polysaccharid versteifen würde. Weiterhin würden die erwähnten Änderungen in den Torsionswinkelwerten der glykosidischen Brücke, überschritten sie einen gewissen kleinen Rahmen, das in dieser Arbeit zugrundegelegte Prinzip der Kombination von Disacchariden zum Polysaccharid in Frage stellen.

Aus diesem Grunde wurde die oben dargestellte Konformation des Trisaccharids zur Kontrolle der Minimierung unterworfen. Ebenso wurde mit einer zweiten Trisaccharidkonformation verfahren, die die glykosidische Brücke der Konformation 7 aus Tabelle 12 enthielt, mit der die Ausbildung des Wasserstoffdoppelbrückensystems von vornherein nicht möglich ist. In Tabelle 15 sind die Ergebnisse dieser beiden Minimierungen enthalten.

Zunächst ist aus dem Vergleich der Start- und Endwerte für die Torsionswinkel eine bemerkenswerte Stabilität der Dimerwerte

abzulesen: Mit Ausnahme des Winkels ϕ der Brücke TalANAC- GlcNAC mit einer Änderung von 10.2° im ersten Trimerfall weist kein Torsionswinkel eine Änderung von mehr als 3.4° auf. Wenn, wie in dieser Arbeit, Aussagen über die prinzipielle Struktur von Polysaccharidketten gemacht werden sollen, ist das angewandte Verfahren also genau genug; eine stärkere Wechselwirkung vom ersten zum dritten Saccharid entlang der Kette als die hier untersuchte über zwei Wasserstoffbrücken erscheint nämlich nicht möglich.

Die vermuteten Superbrücken bilden sich nicht aus; die Daten in Tabelle 15 lassen für die erste und die zweite Konformation des Trisaccharids jeweils eine, auch im jeweiligen Dimer gefundene, Brücke erkennen; die Geometrieparameter der jeweiligen zweiten Beziehung legen die Annahme einer Brücke nicht nahe.

Tabelle 15

Repräsentative Minima des N,N',N''-Triacetylglucosaminyl-1,3-talosaminuronyl-1C-1,3-glucosamins, entstanden durch Minimierung der Kombination der Konformationen 1 und 7 aus Tabelle 12 mit Kombination 1 aus Tabelle 13.

a) Torsionswinkel

Nr	GlcNAc			TalANAc			GlcNAc	
	$\chi(5)$	$\chi(6)$	ϕ	ψ	$\chi(2)$	ϕ	ψ	$\chi(2)$
1	68	-76	-92	-162	94	78	111	150
2	173	56	-75	-92	151	68	112	152

b) Wasserstoffbrückenparameter; Darstellung wie in Tabelle 9

Brücke		Nr.	d(H...x)	d(x-y)	w(yHx)	w(xyH)	w(Hxy)
x...H	- y						
O(7')H(60)O(6)		1	1.68	2.67	175	3	2
		2	7.66	7.42	72	100	7
O(7'')H(20')N(2')		1	3.36	3.36	82	82	17
		2	2.19	2.98	134	32	14

4.7. Heteropolysaccharid mit N-Acetylalosaminuronsäure-C1

Durch die Tatsache, daß alternierende Heteropolysaccharide wie poly-(all 1,3-N-Acetylglucosaminyl-N-acetylalosaminuronsäure-C1) zwei unterschiedliche glykosidische Bindungen besitzen, erhöhen sich die Variationsmöglichkeiten der Polymerkette gegenüber einem Homopolymer wie poly(1,4-N-Acetylglucosamin) (Kapitel 4.3.), da nicht nur einige energiegünstige Konformationen, sondern das Kreuzprodukt von zwei Mengen derartiger Konformationen berücksichtigt werden muß. Für einige Helices aus so kombinierten Minima gibt Tabelle 16 die kennzeichnenden Parameter.

In einem β -1,4-verknüpften polymeren Saccharid wie Chitin liegt der maximal geometrisch mögliche Hub pro Residuum bei $h = 530\text{pm}$, das ist infolge der Einbeziehung von am Pyranosering gerade gegenüberliegender Hydroxylgruppen der größte für solche Saccharide überhaupt denkbare. Für β -1,3-verknüpfte Polymere verkleinert sich dieser Wert auf etwa 450pm , so daß der maximale Hub pro Disaccharid beiläufig 900pm beträgt. In Anbetracht dessen und des Umstandes, daß eine mit einem axialständigen Hydroxyl ausgebildete Verknüpfung eine weitere Verringerung dieses Wertes bewirkt, sind die aus energiegünstigen Dimeren aufgebauten Helices der Tabelle durchweg 'extended'. Keine dieser gestreckten Konformationen weist eine Zähligkeit N größer 4.9 auf; vollständig aus Dimeren der Minimumgebiete I (s. Kapitel 4.5.) bestehende Helices zeigen N zwischen 2 und 3. Abbildung 16 zeigt als Beispiel eine nahezu zweizählige Helix; es ist dabei zu beachten, daß diese Zähligkeit $N = 2$ sich auf dimere Einheiten oder, was dem geometrisch entspricht, auf die Intervalle zwischen Peptidanknüpfungsstellen beziehen muß. Demgegenüber würden die an jedem zweiten Residuum sitzenden Peptide eines nach Art des Chitins monomer zweizähligen Polysaccharids, $n = 2$, selbst einzählig sein und zur gleichen Seite von der Zuckerkette wegzeigen.

Der Wechsel zwischen axialer und äquatorialer Verknüpfung bewirkt eine ungewöhnliche 'Wellblechstruktur' der Zuckerkette (Abbildung 16), die einem zur Zickzackform plissierten Band gleicht. Im Gegensatz zu typischen Kettenformen des poly-(1,4-N-Acetylglucosamins) (Kapitel

4.3., Abbildung 16) ist also eine Aufsicht und eine Seitenansicht deutlich unterscheidbar.

Tabelle 16

Helixparameter einiger Konformationen der poly-N,N'-Diacetylglucosaminy-1,3-talosaminuronsäure-C1. Darstellung wie in Tabelle 14; N Zähligkeit, H Hub bezogen auf Disaccharideinheiten.

GlcNAc	TalANAc	TalANAc	GlcNAc	N	H
ϕ	ψ	ϕ	ψ		
-75	-107	-60	112	-2.9	0.73
-75	-107	-75	111	-2.6	0.73
-75	-107	-71	126	-2.8	0.67
-75	-107	-100	76	-2.0	0.81
-75	-107	-115	78	2.2	0.80
-62	-110	-60	112	-3.1	0.69
-62	-110	-75	111	-2.8	0.70
-62	-110	-71	126	-2.9	0.63
-62	-110	-100	76	-2.1	0.80
-62	-110	-115	78	2.0	0.79
-125	-141	-60	112	-2.1	0.82
-125	-141	-75	111	2.0	0.80
-125	-141	-71	126	-2.1	0.78
-125	-141	-100	76	2.8	0.80
-125	-141	-114	78	3.1	0.77

Abbildung 16

Günstige Konformere für den Saccharidstrang des Pseudomureins im Vergleich mit verwandten Polysacchariden. Die Abbildung zeigt in Ansicht, Kopfbild und Seitensicht a) kristallines Chitin /119/, b) Pseudomurein mit N-Acetylalosaminuronsäure in C1-Ringkonformation, c) Murein /53/, d) Pseudomurein mit N-Acetylalosaminuronsäure in 1C-Ringkonformation.

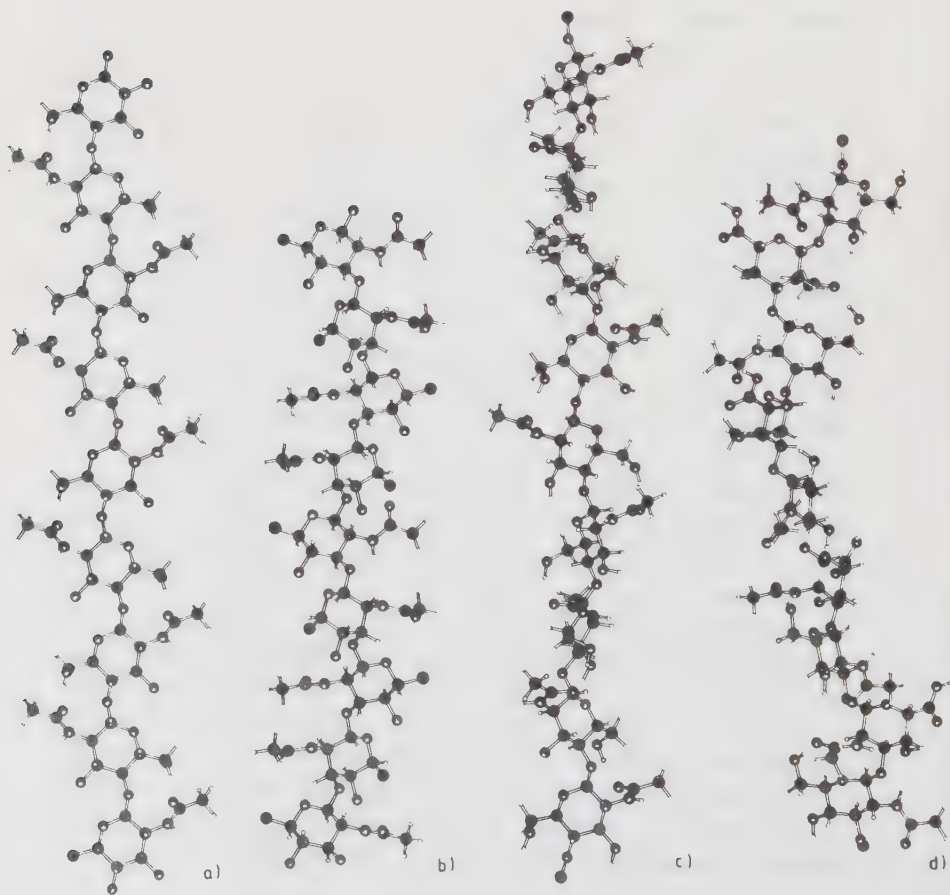
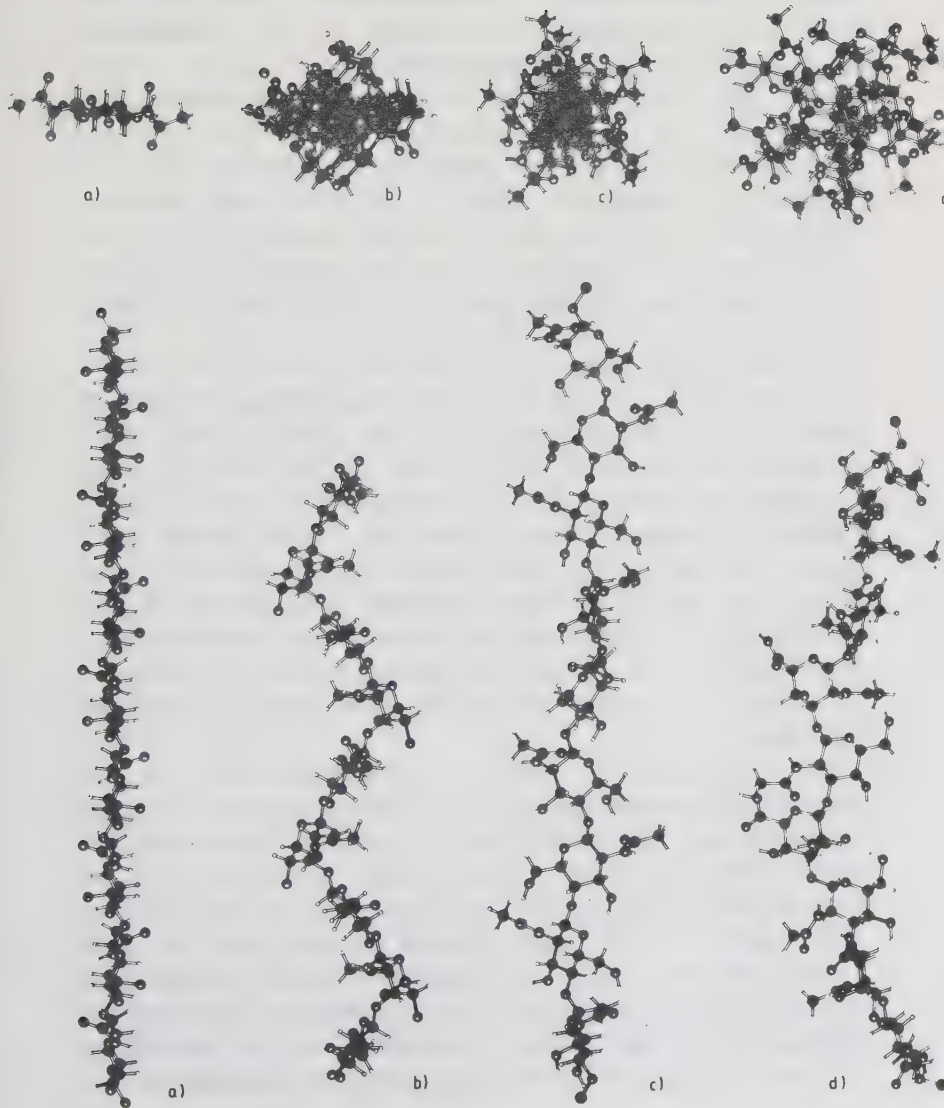


Abbildung 16



4.8. Heteropolysaccharid mit N-Acetylalosaminuronsäure-1C

Im Gegensatz zu dem oben diskutierten Heteropolysaccharid mit N-Acetylalosaminuronsäure in C1-Konformation besitzt poly-(all1,3-N-Acetylglucosaminy-N-acetylalosaminuronsäure-1C) zwei gleichartige glykosidische Bindungen von diäquatorialem Typ.

Nachdem die energie günstigen Konformeren des Dimers mit N-Acetylglucose als reduzierendem Saccharid (Tabelle 13) alle zu einem engen Bereich der entsprechenden Ramachandranmap gehören, wird die Variation im Aussehen des polymeren Saccharids allein durch die Konformation der Glucose-Talose-Verknüpfung bewirkt (Tabelle 17). Helices, bei denen diese Verknüpfung aus Minimumgebiet I (Kapitel 4.6.1.) stammt, sind linkshändig gestreckt mit einer Helicität N von 5 bis 6.

Eine 1,3-Verknüpfung ermöglicht nur einen kleineren möglichen Hub als eine 1,4-Brücke, bei der der Abstand der beiden Verknüpfungsstellen im Monomer maximal ist, umgekehrt ist der Radius einer durch 1,3-Verknüpfung gebildeten Helix größer als im 1,4-Fall, da die Verbindungslinie zwischen den Verknüpfungsstellen nicht mit einem Ringdiameter zusammenfällt und daher die Strecken zwischen diesen Stellen und dem Ringmittelpunkt nicht einen gestreckten Winkel einschließen. Von diesen beiden Umständen abgesehen gleicht eine solche Helix mit 1,3-glykosidischen Bindungen und Taluronsäure in 1C-Konformation den für poly-(1,4-N-Acetylglucosamin) berechneten Helices sehr stark, stärker zumindest als eine solche mit TalANAcC1 (Abbildung 16).

Stammt dagegen die Dimerkonformation des Glucosaminy-talosalaminuronsäurepaars aus Minimumgebiet II, bilden sich Helices mit hohen Zähligkeiten (N um 20 mit beiden Vorzeichen) und geringem Hub aus (Tabelle 17). Solche Helices sind wie die entsprechenden des Poly-(1,4-N-Acetylglucosamins) 'hollow' /118/. Die hohen Werte für N kommen dadurch zustande, daß die beiden glykosidischen Brücken, die ja entgegengesetzt gleiche Pseudotorsionen aufweisen (Kapitel 4.6.), sich in ihrer Wirkung auf die Helicität fast aufheben. Entsprechend zeigen die Ansatzstellen für die Peptidstränge fast zur gleichen Seite, der exakte Wert einer einhändigen Helix

($N \rightarrow \infty$ entspricht $N = 1$, siehe Kapitel 5.3.) wurde jedoch nicht gefunden.

Tabelle 17

Helixparameter einiger Konformationen der poly-N,N'-Diacetylglucosaminyl-1,3-talosaminuronsäure-1C. Darstellung wie in Tabelle 16.

GlcNAc	TalANAc	TalANAc	GlcNAc	N	H
ϕ	ψ	ϕ	ψ		
-93	-162	68	111	-5.8	0.86
-74	-93	68	111	20.8	0.57
-60	-130	68	111	-18.1	0.49
-121	-160	68	111	-4.5	0.83

4.9. Vergleich der Polysaccharide

Die in Kapitel 4.3. diskutierten Ergebnisse für ein Polymer des N-Acetylglucosamins können mit gewissen Einschränkungen auch auf die Saccharidkette des Mureins angewendet werden. Berücksichtigt werden muß allerdings der Umstand, daß die N-Acetylmuraminsäure, die an jeder zweiten Position der Kette auftritt, sich von N-Acetylglucosamin durch einen durchaus nicht vernachlässigbar kleinen Substituenten an C(3), einem Lactylether mit anhängendem Pentapeptid, unterscheidet, der zudem infolge des Fehlens eines H(30) die sonst 'übliche' Wasserstoffbrücke zum Ringsauerstoff des vorigen Saccharidresiduums verhindert /13/. Es ist allerdings unwahrscheinlich, daß durch diesen Substituenten dem Dimer N,N'-Diacetyl-glucosaminyl-1,4-muraminsäure neue, dem Homopolymer verschlossene Minimalkonformationen eröffnet werden, vielmehr wird die Vielfalt energiegünstiger Konformationen durch diese voluminöse Gruppe eingeschränkt werden.

Die andere Dimereinheit des Mureins dagegen, N,N'-Diacetyl-muramyl-1,4-glucosamin dürfte in ihren Bestkonformationen denen des Homodimers gleichen. Insofern kann die in Abbildung 16 enthaltene Darstellung einer typischen Poly-(N-Acetylglucosamin)-Kette in Ermangelung anderer Daten auch als Darstellung einer typischen Mureinzuckerkette gelten. Die Verwendung als Gerüstbestandteil verlangt der Saccharidkette eines Peptidoglycans ein günstiges topologisches Verhalten in Hinsicht auf zwei Punkte ab: Erstens sollte die Kette aus ökonomischen Gründen eine möglichst große Distanz mit wenigen Residuen überspannen - die für den Wandaufbau benötigte Materialmenge und die erforderliche biosynthetische Leistung ist ja beachtenswert -, zum anderen hängt die Art und Güte der Quervernetzung vom Muster der Peptidansatzpunkte entlang der Zuckerkette ab.

Alle aus energiegünstigen Dimeren aufgebauten Polysaccharidketten dieser Arbeit gehören zum 'extended'-Typ, wie dies für Gerüstsaccharide üblich und zu erwarten ist /118/. Daraus folgt, daß zum einen tatsächlich von ihnen eine größtmögliche Distanz überspannt wird, wobei 1,3-verknüpfte Saccharide etwas benachteiligt sind, da der Abstand der beiden Verknüpfungsstellen am Ring kleiner als im 1,4-Fall

ist, zweitens ist dadurch der einzelne Zuckerstrang ziemlich rigide; eine Konformationsänderung zur Verkürzung des Hubs H und damit der Längenausdehnung der Saccharidkette führt zu Konformationen höherer Energie, eine Verlängerung ist ohne Zerstörung der Kette überhaupt nicht möglich. Die in Abbildung 16 gezeigten Beispiele umfassen jeweils neun Residuen im gleichen Maßstab, direkte Vergleiche der Kettenlängen sind damit anhand der Abbildungen möglich.

Der zweite für Peptidoglycanstrukturen wesentliche Punkt ist das Verteilungsmuster der Peptidansatzstellen entlang der Zuckerkette. In beiden Peptidoglycanen trägt in der Regel jedes zweite Saccharidresiduum eine Peptidseitenkette. Die auf Disaccharideinheiten fußende Charakterisierung von Helices ist deswegen gleichzeitig eine Charakterisierung der Verteilung der Peptidansatzpunkte entlang der Zuckerkette. In den energiegünstigen Polymerkonformationen in Murein und Pseudomurein ist der Abstand zweier Peptidansatzstellen, gemessen entlang der Helixachse, gleich dem Hub H pro Disaccharid und damit, wie oben gezeigt, ziemlich konstant. Insbesondere ist der zweite Verteilungsparameter, der Winkelzuwachs α von einer Ansatzstelle zur nächsten, gemessen senkrecht zur Helixachse, von H praktisch unabhängig. Beispielsweise zeigen die Ketten des Chitins und des Mureinmodells aus Abbildung 16 bei deutlich verschiedener Verdrillung und damit verschiedenem α gleiches H . Die Größe α ist aus der Zähligkeit pro Dimer N über die Beziehung $\alpha = 360^\circ/N$ direkt abzuleiten (siehe Kapitel 5.3.).

Für kristallines Chitin mit einer Zähligkeit pro Monomer $n = 2$ /119,121/ ergäbe sich pro Dimereinheit ein $N = 1$, das heißt, jedes zweite Residuum und damit jede Peptidansatzstelle hat die gleiche Lage relativ zur Saccharidkette, die Peptide stehen alle zur selben Seite. Eine Struktur von diesem Typ ist in früheren Arbeiten /6-8/ für die Zuckerkette des Mureins vorgeschlagen worden; späteren Konformationsberechnungen /9,13,53,54,57,117/ zufolge sind die dazu erforderlichen Saccharidkonformationen unwahrscheinlich, da sie nicht durch die regelmäßigen intermolekularen Wechselwirkungen eines Kristallverbandes stabilisiert werden.

Auf der Grundlage von Röntgen- und Infrarotexperimenten gewonnene

Daten /9,11,38,122-124/ widersprechen einer solchen Struktur ebenfalls. Bildet man einen Pseudo-Torsionswinkel aus der Helixachse und den Positionen zweier aufeinanderfolgender Peptidansatzpunkte, ein Winkel, der mit dem oben erwähnten identisch ist, so kann die Vielfalt möglicher Peptidverteilungsmuster durch Newmanprojektionen dieses Winkels übersichtlich dargestellt werden; dies ist in Abbildung 17 geschehen.

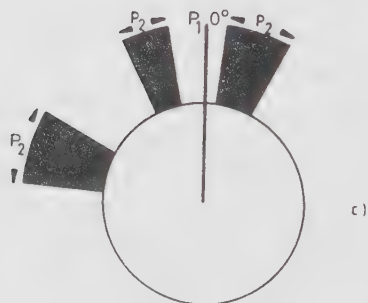
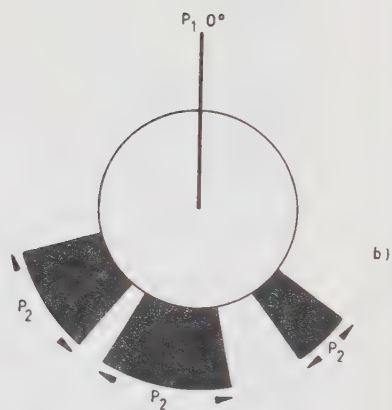
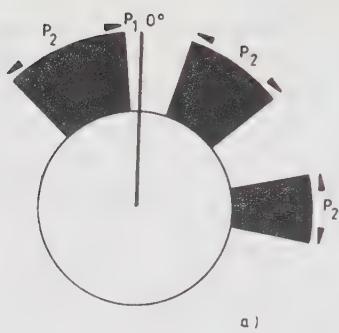
Eine chitinähnliche Anordnung entspräche in dieser Abbildung einem Pseudotorsionswinkel von 0° . Keine der betrachteten Verbindungen kann einen solchen Winkel energiegunstig ausbilden. In der Newmanprojektion der Mureinmodellsubstanz, poly-N-Acetylglucose, befindet sich bei 0° eine von zwei Lücken, die zweite liegt um 50° entsprechend $n = -2.3$. In Abbildung 7 lägen Konformationen, die dieser zweiten Lücke entsprechen, auf der Paßhöhe zwischen den beiden Untergebieten von Gebiet I, während die erste durch einen Mangel an Konformationen um $(\phi, \psi) = (-95^\circ, -155^\circ)$ gebildet wird.

Abbildung 17 gibt die Verteilung der aus der in Kapitel 3.4.2. beschriebenen Minimierung stammenden lokalen Minima wieder; soweit Helices mit den Lücken entsprechenden Zähligkeiten Torsionswinkel der Minimumgebiete in der Ramachandranmap aufweisen, können sie natürlich in den nativen Peptidoglycanen auftreten, da die einzelnen glykosidischen Bindungen im Nativmaterial zwar energetisch nicht allzu ungünstig sein dürfen, aber infolge intermolekularer Wechselwirkungen und dergleichen nicht alle ein an Dimeren gefundenes lokales Minimum einnehmen müssen. Es ist allerdings zu beachten, daß selbst bei gleichmäßiger Bedeckung des Minimumgebiets I mit Konformeren die den Lücken entsprechenden Zähligkeiten seltener auftreten als andere: Die Kurven konstanter Zähligkeit sind in der Ramachandranmap Geraden der allgemeinen Gleichung $\phi + \psi = \text{const.}$, die in Abbildung 7 von links oben nach rechts unten diagonal durch das Bild laufen. Die den Lücken entsprechenden Geraden dieser Geradenschar sind diejenigen, die das Minimumgebiet auf nur kurzen Strecken berühren. Die entsprechenden Zähligkeiten sind also statistisch benachteiligt.

Abbildung 17

Relative Positionen von Peptidansatzstellen an den Saccharidsträngen von Peptidoglycanen. Dargestellt sind die Newman-Projektionen der Pseudotorsionswinkel, gebildet von der Helixachse und den Loten zweier aufeinanderfolgender Peptidansatzstellen in a) poly-1,4-N-Acetylglucosamin als Mureinsaccharidmodell, b) poly-N,N'-Diacetylglucosaminyltalosaminuronsäure-C1 und c) poly-N,N'-Diacetylglucosaminyltalosaminuronsäure-1C. P markiert Positionen eines zweiten Peptidansatzes in Konformeren bis zu einer Energie von 20 kJ/Mol Disaccharid über dem globalen Minimum, wenn der erste Peptidansatz bei 0° liegt.

Abbildung 17



Im Gegensatz zu den Newmandiagrammen des poly(1,4-N-Acetylglucosamins) entstehen die Newmandiagramme des Pseudomureinsaccharids in den beiden Ringkonformationen durch Bilden des Kreuzprodukts zweier Mengen von Konformeren, da Heteropolymere vorliegen, die zwei unterschiedliche glykosidische Verknüpfungen aufweisen. Wenn das Taluronsäureresiduum in der $1C_4$ -Ringkonformation vorliegt, sind in beiden glykosidischen Verknüpfungen die beiden benachbarten Residuen um etwa 180° gegeneinander verdreht (s. Kapitel 4.6.), ähnlich, wie dies im Mureinmodellsaccharid der Fall ist, so daß die entsprechenden Newmandiagramme einander stark ähneln (Abb. 17). Hier wie dort sind drei Konformationsbereiche durch Lücken voneinander getrennt, wobei eine Lücke den Konformationen mit exakt zweizähliger Symmetrie entspricht; in beiden Fällen wird der am weitesten von dieser zweizähligen Symmetrie entfernte Bereich von den niedrigstenergetischen Konformationen gebildet.

Die effektiven Helicitäten der Saccharidketten der Pseudomureinmodelle entstehen durch das Zusammenfügen der Anteile der beiden vorhandenen unterschiedlichen glykosidischen Verknüpfungen. Nach dem im Dimer TalANAc1C-1,3-GlcNAc als einzigem Dimer in dieser Arbeit die Verdrillung der Quincunx in den bestenergetischen Konformationen ein negatives Vorzeichen hat, ist der unterschiedliche Drehsinn der aus energieniedrigsten Konformationen gebildeten Helices dieser beiden Polysaccharide erklärlich. Liegt im Taloseresiduum die C_1 -Ringkonformation vor, weisen im Dimer TalANAcC1-1,3-GlcNAc gleichartige Substituenten an beiden Residuen etwa zur gleichen Seite (Kapitel 4.5.1.), die beiden Ringe sind nicht gegeneinander um 180° verdreht, während das zweite im Polysaccharid anzutreffende Dimer, GlcNAc-1,3-TalANAcC1 sich in dieser Hinsicht wie die übrigen hier behandelten Dimere verhält. Entsprechend unterscheidet sich das Newmanbild der Helices des entsprechenden Pseudomureinmodells (Abb. 17) von denen der übrigen Polysaccharide um etwa 180° in den Winkelwerten. Der Aufbau des Newmanbildes ist im übrigen dem der anderen Bilder bemerkenswert ähnlich: Drei Gebiete werden durch Lücken getrennt und decken insgesamt ungefähr ein Drittel des Vollwinkels ab. Im Gegensatz zum Fall des N,N'-Diacetyl-talosaminuronyl-glucosamindimers mit dem Taloseresiduum

in C1-Ringkonformation hat hier die glykosidische Verknüpfung eine breiter gefächerte Zahl von Konformationen aus beiden Untergebieten des Gebiets I. Die Helicitäten des Polysaccharidstranges sind daher nicht nur im Wesentlichen durch die Konformation eines Dimers bestimmt wie im 1C-Fall. Tatsächlich entspricht jedes der drei Gebiete des Newmanbildes einer der drei Kombinationsmöglichkeiten: Helices, bei denen beide glykosidischen Verknüpfungen dem energieärmeren Untergebiet des Gebiets I entstammen, bilden Pseudotorsionswinkel um -130° aus; entstammen beide Verknüpfungen dem zweiten, etwas energiereicheren Untergebiet, erfolgt eine Vorzeichenumkehr, solche Helices sind im Torsionswinkelgebiet um 130° angesiedelt. Liegt schließlich nur eine der beiden Verknüpfungen konformationell im Bestenergieuntergebiet, entsteht eine auf das Dimer bezogen etwa zweizählige Helix.

Den vorliegenden Daten zufolge hat also ein Heteropolysaccharid aus β -D-N-Acetylglucosamin in C1-Ringkonformation und β -L-N-Acetylalosaminuronsäure in 1C-Ringkonformation, 1,3-verknüpft, als Modell für das Saccharidgerüst des Pseudomureins eine größere strukturelle Ähnlichkeit mit dem Polysaccharidstrang neuerer Mureinmodelle /13,38,53-56,118,119/ als bei Vorliegen von α -L-N-Acetylalosaminuronsäure in 1C-Ringkonformation: Beide Saccharidketten sind bis auf das geometrisch mögliche Maß gestreckt, weisen in den aus energiegünstigen Dimerkonformationen gebildeten Helices Zähligkeiten N des Dimers um 5 auf und gewähren den anhängenden Peptiden an der Verknüpfungsstelle ein gewisses Maß an Beweglichkeit. Hingegen sind Saccharidketten mit den Taluronsäureresiduen in 1C-Ringkonformation in für sie typischer Weise wellblechartig geformt, wodurch sich im Querschnitt eine Vorzugsrichtung ausbildet (Abb. 16), die im weiteren Verlauf der Kette nur langsam tordiert wird. Die Peptidansatzstelle wäre bemerkenswert steif. Für ein Netzwerk aus Peptidoglycan sind die Strukturen von Zuckerteil und Peptidteil gleichermaßen bedeutsam, wobei die Flexibilität des Gerüsts im wesentlichen durch die Peptide bedingt wird /13/, wogegen die Saccharidteile wie mäßig verformbare Korsettstäbe wirken. Archebakterien sind wie viele Eubakterien grampositiv, ihre Zellwände bestehen also aus mehrschichtig

angeordneten Peptidoglycansträngen, die in drei Dimensionen vernetzt sind. Hierfür sind Zuckerstrukturen, in denen die Peptidansatzstellen flexibel und in alle Richtungen weisend an einen circular recht homogenen Saccharidstrang verteilt sind, besser geeignet als solche, in denen die Zuckerebenen und damit die Peptidansatzstellen Vorzugsrichtungen ausbilden, wie dies extrem bei chitinähnlichen Sacchariden vorkäme. Nimmt man die große Ähnlichkeit der energiegünstigen Peptidkonformationen in Murein und Pseudomurein hinzu /36/, ist also ein Pseudomureingerüst, dessen Talosaminuronsäureresiduen in C1-Ringkonformation vorliegen, dem im gegenwärtigen Stand der Forschung wahrscheinlichsten Mureinmodell sehr ähnlich und wie dieses in der Lage, alle an Peptidoglycane gestellten strukturellen Anforderungen zu erfüllen. In Ermangelung experimenteller Daten, die die Ringkonformation der Taloseresiduen eindeutig festlegen, wird daher diese Struktur für den Saccharidteil des Pseudomureins als wahrscheinlich angesehen.

5. Anhang

5.1. Nomenklatur

Die in dieser Arbeit verwendete Nomenklatur entspricht den Empfehlungen entsprechender Kommissionen der IUPAC /34,125/. Die Atome in Monosacchariden sind gemäß dem in Abbildung 18 gegebenen Schema numeriert.

Die Namen von Torsionswinkeln sind aus Tabelle 18 zu ersehen.

Eine cis-planare Anordnung der vier beteiligten Atome entspricht dabei einem Torsionswinkel von 0°.

Wird aus dieser Position heraus bei Blickrichtung vom zweiten zum dritten Atom der hintere Bindungsvektor, also der vom dritten zum vierten Atom, im Uhrzeigersinn gedreht, erhält der resultierende Torsionswinkel ein positives Vorzeichen.

Für einige wichtige Torsionswinkel enthält Tabelle 18 die Inkremente bei Verwendung abweichender Sätze an definierenden Atomen. Atome und Torsionswinkel im reduzierenden Residuum eines Disaccharids sind durch ein zusätzliches Hochkomma gekennzeichnet.

Für die beiden in dieser Arbeit betrachteten Monosaccharide, 2-Desoxy-2-N-acetylamino- β -D-glucopyranose und 2-Desoxy-2-N-acetylamino-L-talopyranosuronsäure werden die Kurzbezeichnungen N-Acetylglucosamin, GlcNAc und Acetylalosaminuronsäure, TalANAc /125/ verwendet. Während für N-Acetylglucosamin grundsätzlich die 1C-Ringkonformation /34/ angenommen wird, werden für N-Acetylalosaminuronsäure sowohl die 1C- als auch die C1-Ringkonformation betrachtet und durch einen entsprechenden Zusatz gekennzeichnet. Bei oligomeren und polymeren Sacchariden wird eine abgekürzte Nomenklatur verwendet, um die Art der glykosidischen Brücke und die Reihenfolge der Monomeren anzugeben /125/. Hiernach wäre etwa GlcNAc-1,3-TalANAcC1 das 1,3-verknüpfte Dimer aus N-Acetylglucosamin als nichtreduzierendem und N-Acetylalosaminuronsäure-C1 als reduzierendem Residuum, also N,N'-Diacetylglucosaminyl-1,3-talosaminuronsäure-C1.

Tabelle 18

Definition der Torsionswinkel.

a) Bezeichnung von Atomen gemäß Abbildung 1; Atome aus dem reduzierenden Residuum eines Disaccharids sind mit einem Hochkomma markiert.

- 1) in N-Acetylglucosamin,
- 2) in N-Acetylglucosaminuronsäure,
- 3) in Oligosacchariden mit 1,4-Verknüpfung,
- 4) in Oligosacchariden mit 1,3-Verknüpfung

x(1)	H(10) - O(1) - C(1) - O(5)
x(2)	C(7) - N(2) - C(2) - C(1)
x(3)	H(30) - O(3) - C(3) - C(4)
x(4)	H(40) - O(4) - C(4) - C(5)
x(5)	O(6) - C(6) - C(5) - O(5) 1)
	O(61) - C(6) - C(5) - O(5) 2)
x(6)	H(60) - O(6) - C(6) - C(5) 1)
	H(60) - O(61) - C(6) - C(5) 2)
φ	C(4') - O(1) - C(1) - O(5) 3)
	C(3') - O(1) - C(1) - O(5) 4)
ψ	C(5') - C(4') - O(1) - C(1) 3)
	C(4') - C(3') - O(1) - C(1) 4)

b) Inkremente für den Vergleich von Torsionswinkeln aus unterschiedlichen Quellen unter Berücksichtigung der in dieser Arbeit verwendeten Geometrie für Hexopyranosen.

$$\phi(C(4') - O(1) - C(1) - O(5)) =$$

$$\phi_a(C(4') - O(1) - C(1) - H(1)) - 120.64^\circ =$$

$$\phi_b(C(4') - O(1) - C(1) \dots C(4)) + 55.38^\circ$$

$$\psi(C(5') - C(4') - O(1) - C(1)) =$$

$$\psi_a(C(3') - C(4') - O(1) - C(1)) + 120.88^\circ =$$

$$\psi_b(H(4') - C(4') - O(1) - C(1)) - 119.03^\circ =$$

$$\psi_c(C(1') \dots C(4') - O(1) - C(1)) + 56.39^\circ$$

$$\tau_2(C(7) - N(2) - C(2) - C(1)) =$$

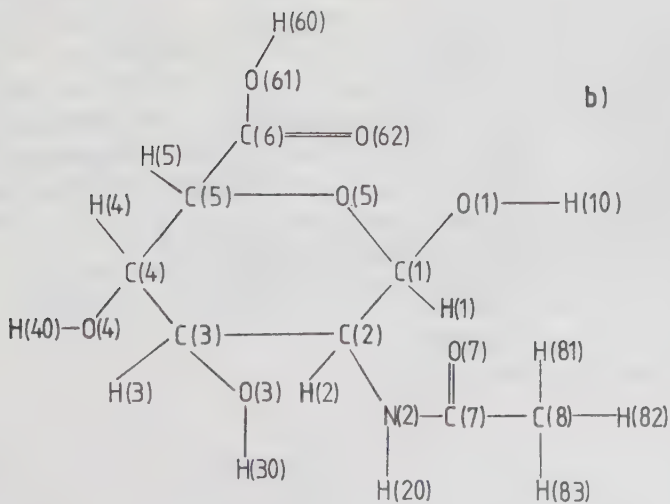
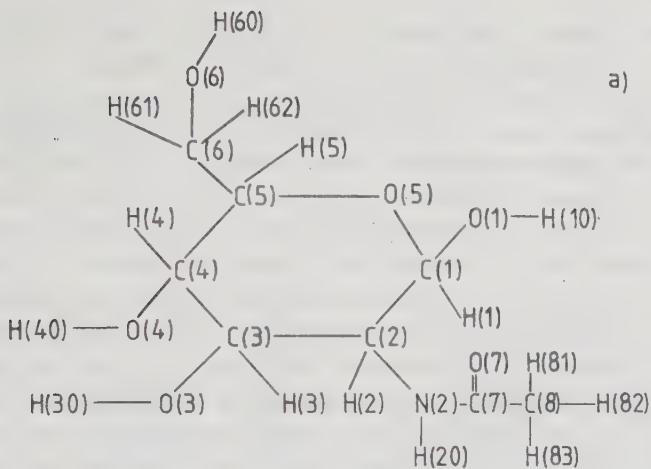
$$\tau_{2a}(C(7) - N(2) - C(2) - C(3)) - 122.04^\circ =$$

$$\tau_{2b}(C(7) - N(2) - C(2) - H(2)) + 121.44^\circ$$

Abbildung 18

Bezeichnungsschema für die Atome im N-Acetylglucosamin und in der N-Acetylglucosaminuronsäure

Abbildung 18



5.2. Mittelung von Uronsäuren

Für eine Mittelung der geometrischen Parameter in Uronsäuren und Aufstellung eines Molekülmodells für N-Acetylalosaminuronsäure konnten 19 unabhängige Datensätze der Kristallstruktur von 16 Pyranosuronsäuren und für die Carboxylgruppe darüberhinaus 8 unabhängige Datensätze der Kristallstrukturen von 5 Pyranosonsäuren und einer Dehydropyranosuronsäure verwendet werden. Um Wiederholungen der oft langen Namen zu vermeiden, werden die Verbindungen in diesem Abschnitt mit römischen Kennziffern bezeichnet, die zusammen mit den Substitutionsmustern der Pyranoseringe in Tabelle 19 aufgeführt sind. Tabelle 20 enthält die Ergebnisse dieser Mittelung. Für die Ringparameter und die Parameter der Seitengruppen an C(1) bis C(4) ist die Übereinstimmung mit den Werten von Arnott u. Scott /52/ gut genug, um deren Verwendung auch für Uronsäuren zu gestatten. Bei den Parametern für die Carboxylgruppe mußte nach Säurederivaten getrennt gemittelt werden, da die geometrische Struktur verschiedener Derivate signifikant voneinander abweicht: Bei Methylestern und Salzen liegen die Mittelwerte beispielsweise im allgemeinen um mehr als die Summe der Standardabweichungen voneinander entfernt. Die Werte freier Carbonsäuren sind, wie aus den großen Standardabweichungen ersichtlich, sehr uneinheitlich. Das ist verständlich, da die Verbindungen dieser Gruppe eine ganze Serie von Strukturen von der undissoziierten Säure bis zu Zwitterionen (z.B. bei Aminogruppen im Molekül) haben können, ohne daß dies in der röntgenographisch bestimmten Kristallstruktur immer deutlich gemacht werden kann, da ja Orte von Wasserstoffatomen nicht ohne einen relativ zu anderen Parametern großen Fehler bestimmt werden können.

Tabelle 19:

Substitutionsmuster der für die Geometriemittelung herangezogenen Urnsäuren und Onsäuren. R1 bis R5: Substituenten an C(1) bis C(5) des Pyranoserings; Z: Saccharidresiduum, Ste: Steroid, Cyt: 1-Cytosyl, Ac: Acetyl. +: Kristallzelle weist zwei unabhängige Residuen auf. a: axialständiger Substituent (alle übrigen Substituenten sind äquatorialständig).

R1	R2	R3	R4	R5	Nummer	Name
OH _a	OH	OH	OH	CONH ₂	I	α-Glucuronamid /126/
OH _a	OH	OH	OH	COO ⁻ ₂	II	Calcium-bromid-α D-glucuronat/127/
OH _a	OH	OH	OH _a	COO ⁻	III	Calciumnatrium-α D-galacturonat/128/
OH _a	OH	OH	OH _a	COO ⁻	IV	Calciumnatrium-αD-galacturonat/129/
OZ	OH	OH	OH _a	COOH	V	βD-Glucuronyl-1,3-galactosamin/73/
Cyt	OH	OH	NH ₂	COOH	VI,VII+	4-Amino-βD-glucuronyl-cytosin/130/
OH	OH	OH	OH	COO ⁻	VIII	Kalium-βD-glucuronat/131/
OC ₂ H ₅	OAc	OAc	OAc	COOCH ₃	IX	1-0-Ethyl-2,3,4-0-Triacetyl-βD-glucuronsäuremethylester/132/
OAc	OAc	OAc	OAc _a	COOCH ₃	X	1,2,3,4-0-Tetraacetyl-βD-galacturonsäuremethylester/133/
O-Ste _a	OAc	OAc	OAc	COOCH ₃	XI	Glycosid mit Triacetyl- αD-glucuronsäuremethylester/134/
OZ _a	OH	OH	OCH	COOH	XII	4-Methoxy-αD-glucuronyl-1,2-βD-xylosyl-1,4-βD-xylose/103/
OH	OH	OH	OH	COO ⁻	XIII	Natrium-βD-glucuronat/135/
OH _a	OH	OH	OH _a	COO ⁻	XIV	Natriumstrontium- αD-galacturonat/128/
OH _a	OH	OH	OZ _a	COO ⁻	XV,XVI+	Strontium-4-Desoxy-βL-threohex-4-enurosyl-1,4- αD-galacturonat/136/, Galacturonsäureresiduum

R1	R2	R3	R4	R5	Nummer	Name
Br _a	OAc	OAc	OAc	COOCH ₃	XVII	1-Brom-2,3,4-tri- O-acetyl- α D-glucuronsäuremethylester/132/
OH	OH	OH	OH	COO ⁻	XVIII	Rubidium-βD-glucuronat/131/
OCH _{3a}	OH	OH	OH _a	COOCH ₃	XIX	1-O-Methyl- α D-galacturon-säuremethylester/137/
Carboxylgruppe:				COOH	XX	2-(m-Brombenzyl)-4,7,8,9-tetra- O-acetyl-N-acetyl- α D-neuraminsäure /138/
				COOH ₃	XXI	N-Acetylneuraminsäuremethylester/139/
				COOH	XXII	2-Keto-L-gulonsäure/140/
				COOH	XXIII	βD-N-Acetylneuraminsäure/141/
				COO ⁻	XXIV, XXV+	Calcium-2-keto-D-gluconat/142/
				COO ⁻	XXVI, XXVII+	Strontium-4-Desoxy-βL- threohex-4-enurosyl-1,4- α D- galacturonat/136/, Threohexenuronsäureresiduum

Tabelle 20:

Mittelwerte für Geometrieparameter in Uronsäuren. Abstände in Å, Winkel und Torsionswinkel in Grad; Standardabweichungen in der Größenordnung der letzten gegebenen Ziffern in Klammern. +: Werte übereinstimmend mit /52/, äquatorial substituiertes C(1), *: ohne Verbindung XVIII, deren Wert als Ausreißer anzusehen ist. 1) anionische, 2) freie, 3) methylierte Carbonsäuregruppe. Für römische Ziffern siehe vorige Tabelle.

In der Spalte 'Größe' sind aus Platzgründen die sonst bei der Bezeichnung von Atomen wegen möglicher Verwechslungen verwendeten Klammern fortgefallen. Zwei Atome deuten einen Abstand, drei einen Bindungswinkel und vier einen Torsionswinkel an.

Größe	Anzahl der verw. Residuen	Nummern der verw. Residuen	Mittel	verwendet in N-Acetyltalosamin- uronsäure
C1 C2	8	V-X, XIII, XVIII	1.518(16)	1.523+
	18	I-XVIII	1.525(28)	
C2C3	18	I-XVIII	1.525(23)	1.521+
C3C4	17	I-XVII	1.521(19)*	1.523+
C4C5	18	I-XVIII	1.541(20)	1.525+
C5O5	18	I-XVIII	1.432(09)	1.436+
O5C1	8	V-X, XIII, XVIII	1.433(34)	1.429+
	18	I-XVIII	1.436(27)	
C1O1	6	V, VIII-X, XIII, XVIII	1.403(27)	1.389+
	15	II-V, VIII-XVI, XVIII	1.406(27)	

Größe	Anzahl der verw. Residuen	Nummern der verw. Residuen	Mittel	verwendet in N-Acetyltalosamin- uronsäure

C303	18	I-XVIII	1.431(20)	1.429+
C404	15	I-V, VIII-X, XII-XVIII	1.433(15)	1.426+
C506	24	I-XVIII XX-XXV	1.512(84)	1.512
C6061	13	II-IV, VIII, XIII-XVI, XVIII, XXIV-XXVII	1.272(30) ¹⁾	1.3
	7	V-VII, XII, XX, XXII, XXIII	1.403(123) ²⁾	
	6	IX-XI, XVII, XIX, XXI	1.313(17) ³⁾	
C6062	13	II-IV, VIII, XIII-XVI, XVIII, XXIV-XXVII	1.235(17) ¹⁾	1.2
	7	V-VII, XII, XX, XXII, XXIII	1.263(105) ²⁾	
	6	IX-XI, XVII, XIX, XXI	1.188(13) ³⁾	
C12C3	18	I-XVIII	110.3(1.7)	110.5+
C2C3C4	18	I-XVIII	110.8(2.6)	110.3+
C3C4C5	18	I-XVIII	109.2(1.6)	110.2+
C4C505	18	I-XVIII	109.6(2.9)	110.2+
C505C1	18	I-XVIII	112.1(2.1)	112.3+
O5C1C2	18	I-XVIII	108.8(2.5)	109.3+

Größe	Anzahl der verw. Residuen	Nummern der verw. Residuen	Mittel	verwendet in N-Acetyltalos- aminuronsäure
C5C6061	13	II-IV, VIII, XIII, XIV, XVIII	116.3(1.6) ¹⁾	112.3
	7	V-VII, XII, XX, XXII, XXIII	112.6(3.3) ²⁾	
	5	IX-XI, XVII, XXI	110.0(3.5) ³⁾	
C5C6062	13	II-IV, VIII, XIII, XIV, XVIII	117.1(2.4) ¹⁾	122.5
	7	V-VII, XII, XX, XXII, XXIII	119.2(5.3) ²⁾	
	5	IX-XI, XVII, XXI	123.6(1.6) ³⁾	
061C6062	13	II-IV, VIII, XIII, XIV, XVIII	125.8(2.4) ¹⁾	125.2
	7	V-VII, XII, XX, XXII, XXIII	122.4(7.4) ²⁾	
	5	IX-XI, XVII, XXI	126.3(3.0) ³⁾	
Summe der drei vor- stehenden	13	II-IV, VIII, XIII XIV, XVIII	359.2 ¹⁾	360
	7	V-VII, XII, XIV, XVIII	354.2 ²⁾	
	5	IX-XI, XVII, XXI	359.9 ³⁾	
01C105	6	V, VIII-X,	106.4(1.9)*	107.3+
	15	I-V, VIII-XVI, XVIII	109.3(2.9)	
01C1C2	15	I-V, VIII-XVI, XVIII	108.4(2.2)	108.4+

Größe	Anzahl der verw. Residuen	Nummern der verw. Residuen	Mittel	verwendet in N-Acetyltalos- aminuronsäure
-------	------------------------------	-------------------------------	--------	---

03C3C2	18	I-XVIII	109.9(3.0)	109.6+
03C3C4	18	I-XVIII	109.2(3.0)	109.7+
04C4C3	15	I-V, VIII-X, XII-XVIII	108.4(2.7)	110.4+
04C4C5	15	I-V, VIII-X, XII-XVIII	110.5(2.8)	108.6+
C6C5C4	18	I-XVIII	112.0(2.7)	112.7+
C6C505	18	I-XVIII	107.0(2.8)	106.9+
C1C2C3C4	18	I-XVIII	-53.2(4.5)	-53.2+
C2C3C4C5	18	I-XVIII	52.1(4.1)	52.2+
C3C4C505	18	I-XVIII	-56.5(4.1)	-55.6+
C4C505C1	18	I-XVIII	64.1(4.2)	62.4+
C505C1C2	18	I-XVIII	-64.2(4.3)	-62.8+
05C1C2C3	18	I-XVIII	57.5(5.0)	57.3+

5.3. Helixparameter

Wie im Kapitel 3.1. dargelegt, sind unter der Voraussetzung, daß die Konformation eines Saccharidresiduums in den vorliegenden Polysacchariden keinen signifikanten Einfluß auf das jeweils übernächste Saccharid ausübt, alle günstigen Konformeren durch Kombination aus den bereits ermittelten Konformationen der glykosidischen Brücken darstellbar. Die Anteile einzelner Konformationen dürften sich dabei statistisch in Abhängigkeit von der jeweiligen Energie einstellen, eine regelmäßige Anordnung der Kettenglieder ist jedenfalls nicht zu erwarten.

Dessenungeachtet ist das Verhalten eines Polysaccharidstücks am einfachsten zu beschreiben, wenn man formal die Kette aus längeren oder kürzeren Teilstücken mit jeweils fast konstanter Brückenstruktur aufbaut. An Oligosacchariden konstanter Brückenkonformation ist eben die 'Wirkung' einer bestimmten Konformation auf die Saccharidkette am deutlichsten zu sehen. Darüberhinaus ist es immerhin möglich, daß (falls nämlich doch gewisse Wechselwirkungen zwischen nichtbenachbarten Residuen auftreten) Domänen von Konformationen entlang der Polysaccharidkette auftreten. Aus diesen Gründen wurde für ausgewählte energiegünstige Konformationen der glykosidischen Brücken das Verhalten in Oligosacchariden untersucht. Jede regelmäßige Anordnung von gleichen Atomgruppen, bei der also die Lage einer Gruppe relativ zur vorigen Gruppe konstant ist, muß zwangsläufig zu einer helicalen Struktur führen, das heißt, daß ein (als Punkt angenommenes) Atom innerhalb der Gruppe zusammen mit den entsprechenden Atomen der anderen Gruppen in gleichmäßigen Abständen auf einer Wendel oder Helix liegende Punkte einnimmt.

Helices dieser Art sind allgemein durch folgende Angaben charakterisiert:

1. Die Lage der Helixachse, d.h. derjenigen Gerade im Raum, von der alle Helixpunkte einen gleichen Abstand haben,
2. der Radius der Helix, d.h. die Größe dieses Abstandes von der Helixachse,
3. die Steigung der Helix oder ein anderes Maß für den Winkel

zwischen Helixkurve und Ebenen senkrecht zur Helixachse,

4. die Zähligkeit, d.h. die Anzahl untereinander gleicher, jeweils eines der oben erwähnten helixdefinierenden Punkte enthaltenden Abschnitte pro Umlauf,

5. die Phase der Helix, d.h. die Angabe eines Wertes für die absolute Lage der Helix bezüglich der Rotation der gesamten Helix um die Helixachse,

6. der Drehsinn der Helix; eine Helix ist rechtshändig oder hat positiven Drehsinn, wenn bei Betrachtung entlang der Helixachse ein die Helix entlangwandernder Punkt sich bei Entfernung vom Betrachter im Uhrzeigersinn um die Achse dreht. Im entgegengesetzten Fall ist die Helix linkshändig oder hat negativen Drehsinn. Es ist vielleicht angebracht zu bemerken, daß diese Eigenschaft von Helices nicht von der Blickrichtung abhängt; wie auch bei der Definition des Vorzeichens eines Torsionswinkels ist die Wahl eines 'vorderen' oder 'hinteren' Endes belanglos.

7. Alternativ zu 3. der Hub pro Umlauf, d.h. der Abstand von zwei genau einen Umlauf entfernten Helixpunkten oder - auch alternativ hierzu -

8. der Hub pro Abschnitt, d.h. die auf die Helixachse projizierte Länge eines Abschnitts, sowie

9. alternativ zu 4. der auf eine Ebene senkrecht zur Helixachse projizierte Winkelzuwachs pro Abschnitt.

Im Falle von Polysacchariden mit starren und gleichartig verknüpften Saccharidketten hängen Hub, Steigung, Zähligkeit und Winkelzuwachs nur von den Torsionswinkeln der glykosidischen Bindung ab; die absolute Lage im Raum nach 1. und 5. ist für die Betrachtung eines einzelnen Saccharidstranges belanglos, der Radius nach 2. wird allerdings auch noch durch die Wahl des helixdefinierenden Atoms im Molekül mitbestimmt.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Größen nach 4., 6. und 8., die Zähligkeit n , der Drehsinn (durch die Vorzeichen + und - an n für rechts- bzw. linksdrehend) und der Hub pro Abschnitt h als Grundgrößen gewählt. Die übrigen Größen sind dann bestimmt durch:

$$n \cdot h$$

- die Steigung nach 3.: $s = \tan \text{-----}$,

$$2 \pi R$$

wenn R der Radius nach 2. ist. s ist also von der Wahl des helixdefinierenden Atoms abhängig und daher als Charakteristikum nur bedingt geeignet.

- der Hub pro Umlauf nach 8.: $g = n \cdot h$

- der Winkelzuwachs pro Abschnitt nach 9.: $\alpha = \frac{2\pi}{n}$

An einige Eigenschaften der Zähligkeit n soll hier noch erinnert werden:

Zähligkeiten $n > 2$ sind, zumal wenn sie ganzzahlig sind, unmittelbar anschaulich. Gebrochene Werte deuten an, daß der Winkelzuwachs α im Vollwinkel nicht aufgeht; die Residuen aufeinanderfolgender Umläufe stehen damit bei einem Blick längs der Helixachse nicht auf Deckung. Sehr große n bedingen sehr kleine Winkel α , im Grenzfall $n \rightarrow \infty$ ist α Null, ein Wert, der auch $n = 1$ zukommt: alle Residuen sind zur gleichen Seite orientiert. Mit Ausnahme dieses speziellen Falles $n = 1$ sind Werte für $n < 2$ nicht sinnvoll; für $1 < n < 2$ wäre $\pi < \alpha < 2\pi$, so daß die Transformation $\alpha : = \alpha - 2\pi$ oder $n : = n/(1-n)$ einen (negativen) Wert für n mit $|n| > 2$ ergibt, eine übliche Helix mit invertiertem Drehsinn also. Werte $0 < n < 1$ schließlich entsprächen einem $\alpha > 2\pi$ und sind in jedem Fall auf ein $n > 2$ zurückführbar. $n = 0$ schließlich ist eine dritte Beschreibungsart des Zustandes, der bereits durch $n = 1$ und $n \rightarrow \infty$ charakterisiert wurde.

Im Falle des Homopolysaccharids poly-GlcNAc bildet ein Saccharidresiduum gerade einen Abschnitt der Helix. Die periodisch wiederkehrende Einheit eines alternierenden Heteropolysaccharids wie poly-(GlcNAc-TalANAc) ist dagegen ein Disaccharid groß, da zwei unterschiedliche glykosidische Verknüpfungen, nämlich die zwischen GlcNAc und TalANAc und die zwischen TalANAc und GlcNAc, in der Regel unterschiedliche Konformationen annehmen. In diesem Falle werden hier, um Mißverständnisse zu vermeiden, Zähligkeit und Hub mit großen Buchstaben N, H beschrieben. Sollen zu Vergleichszwecken in kleingeschriebenen Größen gegebene Helices eines Homopolysaccharids in

Dimereinheiten (mit großgeschriebenen Größen) formuliert werden, gelten die Umrechnungen $G = 2 \cdot g$, $H = 2 \cdot h$ und grundsätzlich $N = \frac{n}{2}$ ($|n| \geq 4$). Für kleine n tritt an die Stelle dieser Formel der Ausdruck

$$N = \frac{n}{2 - |n|} \quad (2 < |n| < 4),$$

mit dem Werte $|N| < 2$ vermieden werden.

6. Zusammenfassung

Der topologische Aufbau der Peptidoglycane, wesentliche Bestandteile der Zellhülle der meisten Prokaryonten, ist trotz der Bemühungen vieler Arbeitsgruppen nicht als geklärt anzusehen. Dies ist vor allem auf den nichtregulären Aufbau dieser Substanzen zurückzuführen, die umfassende experimentelle Strukturanalysen, etwa durch Röntgeneinkristallstrukturanalyse, nicht zulassen. Die Untersuchung einer solchen Verbindung erfolgt zweckmäßig anhand von Strukturmodellen, die es erlauben, die bekannten experimentellen Daten in Beziehung zu setzen und zusammenzufassen.

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Erstellung eines Strukturmodells für den Saccharidteil des Pseudomureins /16/, der Gerüstsubstanz der Zellhülle einiger Archebakterien, mit Hilfe von theoretischen Untersuchungen der möglichen Konformationen und Vergleich mit Strukturmodellen des Mureins /1/, der Gerüstsubstanz der Zellhüllen der Eubakterien, auf der Grundlage der Hypothese /36, 143/, daß Substanzen mit vergleichbarem Aufbau, die in Organismen gleichartige Aufgaben wahrnehmen, eine vergleichbare Struktur auch dann aufweisen, wenn nicht evolutionär enge Beziehungen zwischen ihnen bestehen.

Zu diesem Zweck wurden Konformationsrechnungen an Monomeren und Oligomeren des N-Acetyl- β -D-glucosamins und der N-Acetyl-L-talosaminuronsäure, Bestandteilen des Saccharidteils beider Peptidoglycane, mit Hilfe eines empirischen Potentialansatzes /58/ durchgeführt. Hierzu wurde unter Zuhilfenahme der kristallographischen Daten bekannter Uronsäuren ein Strukturmodell der Acetylaminotalosuronsäure aufgestellt - ein entsprechendes Modell für Acetylaminoglucose war bekannt /53/ - und mit diesen die günstigsten Konformationen dieser Monomere bestimmt. Diese Konformationen bildeten die Grundlage für die Untersuchung der verschiedenen aus den Monomeren bildbaren und für die Peptidoglycane relevanten Sacchariddimere mit den gleichen Methoden.

Besonderes Augenmerk wurde der Ringkonformation der Acetylaminotalosuronsäure gewidmet, da die bisher bekanntgewordenen experimentellen Daten keine eindeutige Wahl zwischen zwei möglichen Ringkonformeren, α -L-N-Acetyl-L-talosaminuronsäure in C1-Konformation

und β -L-N-Acetylalosaminuronsäure in 1C-Konformation, zuließen. Alle Ergebnisse unterstützen die Annahme, daß die Struktur einer glykosidischen Bindung zwischen Pyranosen nicht wesentlich von der Position der Brücke, von der anomeren Lage relativ zu den beiden beteiligten Ringen und nur in speziellen Fällen von der weiteren Substitution der Pyranosen abhängt; insofern wird der von Rees /118/ vorgenommene Versuch einer Generalisierung der Strukturen von Polysacchariden bestätigt.

Die so gefundenen Dimerkonformationen lassen Aussagen über die Struktur der Saccharidpolymerketten der Peptidoglycane zu. Zum Zwecke der Beschreibung wurden die helicalen Parameter dieser Polymere mit einem hierfür hergestellten Programm bestimmt und einander gegenübergestellt.

Diese Untersuchungen ergaben, daß tatsächlich die aus energieniederen Dimerkonformationen aufgebauten Polymerketten des poly-1,4-N-Acetyl- β -D-glucosamins als Modell eines Mureinzuckerstrangs und entsprechend konstruierte Ketten eines alternierenden Heteropolymers aus β -1,3-verknüpftem N-Acetyl-D-glucosamin und 1C-N-Acetyl-L-talosaminuronsäure als Modell eines Pseudomureinzuckerstrangs eine sehr große strukturelle Ähnlichkeit aufweisen: Beide Ketten sind größtmöglich gestreckt, so daß mit der vorliegenden Anzahl an Kettengliedern eine möglichst große Distanz überspannt werden kann, die so gebildeten Helices haben Zähligkeiten von etwa fünf, so daß die gesamte Oberfläche des Saccharidstrangs gleichmäßig mit Peptidansatzstellen besetzt ist und keine Vorzugsrichtungen (wie etwa bei einer zweizähligen chitinähnlichen Struktur) feststellbar sind (Abbildung 16). Im Gegensatz dazu hat eine Heteropolysaccharidkette mit α -L-N-Acetylalosaminuronsäure, also dem C1-Ringkonformer, eine sehr ungewöhnliche wellblechartige Struktur (Abbildung 10), die die Peptidansatzstellen, die darüberhinaus merklich in ihrer Beweglichkeit eingeschränkt sind, nicht isotrop über die Peripherie des Glycans verteilt trägt und daher zum Aufbau eines dreidimensionalen Netzwerks nicht gut geeignet erscheint; da weiterhin das C1-Ringkonformer auch energetisch gegenüber dem 1C-Ringkonformer einer L-Taluronsäure benachteiligt ist /35/, ist sein Auftreten in nativem Pseudomurein nicht wahrscheinlich.

Die energie günstigste und den Erfordernissen des Zellwandaufbaus am besten entsprechende Struktur des Polysaccharidstrangs des Pseudomureins, die den bisherigen experimentellen Erkenntnissen nicht widerspricht, ist das β -1,3-verbrückte Heteropolysaccharid aus D-N-Acetylglucosamin als C1-Konformerem und L-N-Acetylglucosaminuronsäure als 1C-Konformerem in Konformationen, die eine gestreckte etwa fünfzählige Helix hervorrufen; eine Struktur, die sowohl die Annahmen von Rees /118/ über den Aufbau eines Gerüstpolysaccharids als auch die Hypothese /36, 143/ des gleichartigen Aufbaus bei gleichartigen Erfordernissen bestätigt.

7. LITERATUR

- /1/ Weidel, W., Pelzer, H. (1964)
Adv. Enzymol. 26, 193
- /2/ Schleifer, K.H., Kandler, O. (1972)
Bacteriol. Rev. 36, 407
- /3/ Weiss, N., Schleifer, K.H., Kandler, O. (1981)
Rev. Inst. Pasteur Lyon 14 (1-2), 3
- /4/ Weiss, N. (1981)
Rev. Inst. Pasteur Lyon 14(1-2), 53
- /5/ Tipper, D.J. (1970)
Int. J. Syst. Bacteriol 20, 361
- /6/ Kelemen, M.V., Rogers, H.J. (1971)
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 68, 992
- /7/ Oldmixon, E.H., Glauser, S., Higgins, M.L. (1974)
Biopolymers 13, 2037
- /8/ Formanek, H., Formanek, S., Wawra, H. (1974)
Eur. J. Biochem. 46, 279
- /9/ Burge, R.E., Fowler, A.G., Reaveley, D.A. (1977)
J. Mol. Biol. 117, 927
- /10/ Verwer, R.W.H., Nanninga, N., Keck, W., Schwarz, U. (1978)
J. Bacteriol. 136, 723
- /11/ Labischinski, H., Barnickel, G., Roenspeck, W., Roth, K. Giesbrecht, P.
(1981) Zbl. Bakt. Suppl. 10, 427

- /12/ Formanek, H. (1982)
Z. Naturforsch. 37c, 226
- /13/ Barnickel, G., Naumann, D., Bradaczek, H., Labischinski, H.,
Giesbrecht, P. (1983)
in "The Target of Penicillin" (Hakenbeck, R., Höltje, J.-V.
und Labischinski, H., eds.), S. 61, de Gruyter Verlag,
Berlin, New York
- /14/ Woese, C.R., Magrum, L.J., Fox, G.E. (1978)
J. Mol. Evol. 11(3), 245
- /15/ Stackebrandt, E., Woese, C.R. (1979)
Forum Mikrobiol 2(4), 183
- /16/ Kandler, O. (1979) Naturwissenschaften 66, 95
- /17/ Barker, H.A. (1956) in
Bacterial Fermentations, S. 1, Wiley and sons, New York
- /18/ Woese, C.R., Fox, G.E. (1978)
Nature 273, 101
- /19/ Fox, G.E., Magrum, L.J., Balch, W.E., Wolfe, R.S., Woese, C.R. (1977)
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74, 4537
- /20/ Balch, W.E., Magrum, L.J., Fox, G.E., Wolfe, R.S., Woese, C.R. (1977)
J. Mol. Evol. 9, 305
- /21/ Magrum, L.J., Luehrsen, K.R., Woese, C.R. (1978)
J. Mol. Evol. 11(1), 1

- /22/ Kandler, O. (1981)
Naturwissenschaften 68(4), 183
- /23/ Woese, C.R., Fox, G.E. (1977)
Proc. Natl. Acad. Sci. (Wash.) 74, 5088
- /24/ Brock, T.D. (1972)
Arch. Microbiol. 84, 54
- /25/ Kandler, O., König, H. (1978)
Arch. Microbiol. 118, 141
- /26/ Kandler, O., König, H. (1978)
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 359, 282
- /27/ König, H., Kandler, O. (1979)
Arch. Microbiol. 121, 271
- /28/ Schönheit, P., Thauer, R.K. (1980)
FEMS Microbiol. Lett. 9(2), 77
- /29/ Schleifer, K.H., Kandler, O. (1983) in
"The Target of Penicillin" (Hakenbeck, R., Höltje, J.-V.,
Labischinski, H., (eds.), S. 11, de Gruyter Verlag, Berlin, New York
- /30/ König, H., Kralik, R., Kandler, O. (1982)
Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. C3, 179
- /31/ König, H., Kandler, O. (1979)
Arch. Microbiol. 123, 295
- /32/ König, H., Kandler, O. (1980)
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 361, 981

- /33/ König, H., Kandler, O., Jensen, M., Rietschel, E.Th. (1983)
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 364, 627
- /34/ IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature (1980)
Eur. J. Biochem. 111, 295
- /35/ Angyal, S.J. (1969)
Angew. Chem. 81, 172
- /36/ Labischinski, H., Barnickel G., Leps, B., Bradaczek, H.,
Giesbrecht, P. (1980)
Arch. Microbiol. 127, 195
- /37/ Zeikus, J.G., Bowen, V.G. (1975)
Can. J. Microbiol. 21, 121
- /38/ Labischinski, H., Barnickel, G., Bradaczek, H., Giesbrecht, P. (1979)
Eur. J. Biochem. 95, 147
- /39/ Hilpert, R., Winter, J., Hammes, W., Kandler, O. (1981)
Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. C2, 11
- /40/ Convay de Macario, E., Macario, A.J.L., Kandler, O. (1982)
J. Immunol. 129 (4), 1670
- /41/ Labischinski, H., Barnickel, G., Leps, B., Bradaczek, H.,
Giesbrecht, P. (1980)
2nd Internat. Congress on Cell Biology, Berlin
- /42/ Barnickel, G., Labischinski, H., Bradaczek, H., Giesbrecht, P. (1979)
Eur. J. Biochem. 95, 157

- /43/ Leps, B., Barnickel, G., Bradaczek, H., Labischinski, H. (1984)
J. theor. Biol. 107, 85
- /44/ Leps, B., Labischinski, H., Barnickel, G., Bradaczek, H.
Giesbrecht, P. (1984)
Eur. J. Biochem. 144, 279
- /45/ Demokritos v. Abdera (um 380 v. Chr.)
- /46/ Dalton, J. (1808)
A New System of Chemical Philosophy. Part I. London
- /47/ Kekulé v. Stradonitz, A. (1858)
Liebigs Ann. Chem. Pharm. 106(2), 129
- /48/ van't Hoff, J.H. (1877)
Die Lagerung der Atome im Raume
- /49/ Scholz, M. und Köhler, H.J. (1981)
Quantenchemische Näherungsverfahren. Hüthiger Verlag Heidelberg
- /50/ Dyott, T.M., Stuper, A.J., Zander, G.S. (1980)
J. Chem. Inf. Comput. Sci. 20, 28
- /51/ Pople, J.A., Beveridge, D.L. (1980)
Quantum Chemistry Program Exchange, Indiana University,
Bloomington, Program No. 389
- /52/ Arnott, S., Scott, W.E. (1972)
J. Chem. Soc. Perkin II, 324
- /53/ Pincus, M.R., Burgess, A.W., Scheraga, A.H. (1976)
Biopolymers 15, 2485

- /54/ Yadav, J.S., Labischinski, H., Barnickel, G., Bradaczek H., (1981)
J. theor. Biol., 88, 441
- /55/ Yadav, J.S., Barnickel, G., Bradaczek, H., Labischinski, H. (1982)
J. theor. Biol. 95, 151
- /56/ Yadav, J.S., Barnickel, G., Bradaczek, H., Labischinski, H. (1982)
J. ther. Biol. 95, 167
- /57/ Yadav, J.S., Barnickel, G., Bradaczek, H., Labischinski, H. (1982)
J. theor. Biol. 95, 285
- /58/ Momany, F.A., McGuire, R.F., Burgess, A.W., Scheraga, H.A. (1975)
J. Phys. Chem. 79, 2361
- /59/ Kennard, O., Allen, F.H., Brice, H.D., Hummelink, T.W.A.,
Motherwell, W.D.S., Rodgers, J.R., Watson, D. G. (1977)
Pure appl. Chem. 49, 1807
- /60/ Rees, D.A., Skerrett, R.J. (1968)
Carbohydr. Res. 7, 334
- /61/ Melberg, S., Rasmussen, K. (1979)
Carbohydr. Res. 71, 25
- /62/ Bock, K., Arnarp, J., Lønngren, J. (1982)
Eur. J. Biochem. 129, 171
- /63/ Browman, M.J., Carruthers, L.M., Kashiba, K.L., Momany, F.A.,
Pottle, M.S., Rosen, S.P., Rumsay, S.M., Endres, G.F.,
Scheraga, H.A. (1975)
Quantum Chemistry Program Exchange, Indiana University,
Bloomington, Program No. 286

- /64/ Kitaigorodsky, A.I. (1973)
Molecular Crystals and Molecules. Academic Press, London, New York
- /65/ Momany, F.A., Carruthers, L.M., Mc Guire, R.F., Scheraga, H.A. (1974)
J. Phys. Chem. 78, 1595
- /66/ Barnickel, G. (1983)
Inaugural-Dissertation FU Berlin
- /67/ Powell, M.J.D. (1964)
Comput. J. 7, 155
- /68/ Keller, E. (1980)
Chem. Unserer Zeit, 14, 56
- /69/ Shimanouchi, T., Mizushima, S.-I. (1955)
J. Chem. Phys. 23, 707
- /70/ Miyazawa, T. (1961)
J. Polymer Sci. 55, 215
- /71/ Foces-Foces, C., Cano, F.H., Garcia-Blanco, S. (1980)
Acta Cryst. B36, 377
- /72/ Ganguly, A.K., Sarre, O.Z., Mc Phail, A.T., Miller, R.W. (1979)
J. Chem. Soc. Chem. Comm. 22
- /73/ Senma, M., Taga, T., Osaki, K. (1974)
Chem. Lett., 1415
- /74/ Takeda, H., Yasuoka, N., Kasai, N. (1977)
Carbohydr. Res. 53, 137

- /75/ Takeda, H., Kaiya, T., Yasuoka, N., Kasai, N. (1978)
Carbohydr. Res. 62, 27
- /76/ Shiro, M., Nakai, H., Nagashima, K. und Tsuji, N. (1978)
J. Chem. Soc. Chem. Comm. 682
- /77/ Kupfer, E., Neupert-Laves, K., Dobler, M., Keller-Schierlein, W.
(1982) Helv. Chim. Acta 65, 3
- /78/ Nakayama, H., Otake, N., Miyamae, H., Sato, S., Saito, Y.
(1979) J. Chem. Soc. Perkin II , 293
- /79/ Ham, J.T., Williams, D.G. (1970)
Acta Cryst. B26, 1373
- /80/ Fries, D.C., Rao, S.T., Sundaralingam, M. (1971)
Acta Cryst. B27, 994
- /81/ Beevers, C.A., Hansen, H.N. (1971)
Acta Cryst. B27, 1323
- /82/ Kurachi, K., Sieker, L.C., Jensen, L.H. (1976)
J. Mol. Biol. 101, 11
- /83/ Brown, C.J. (1966)
J. Chem. Soc. A, 927
- /84/ Chu, S.S.C., Jeffrey, G.A. (1968)
Acta Cryst. B24, 830
- /85/ Jacobson, R.A., Wunderlich, J.A., Lipscomb, W.N. (1961)
Acta Cryst. 14, 598

- /86/ Warin, V., Baert, F., Fouret, R., Strecker, G., Spik, G.,
Fournet, B., Montreuil, J. (1979)
Carbohydr. Res. 76, 11
- /87/ Ford, L.O., Johnson, L.N., Machin, P.A., Phillips, D.C.,
Tjian, R. (1974)
J. Mol. Biol. 88, 349
- /88/ Bugg, C.E. (1973)
J. Am. Chem. Soc. 95, 908
- /89/ Cook, W.J., Bugg, C.E. (1973)
Acta Cryst. B29, 907
- /90/ Perez, S., Brisse, F. (1977)
Acta Cryst. B33, 2578
- /91/ Leung, F., Chanzy, H.D., Perez, S., Marchessault, R.H. (1976)
Can. J. Chem. 54, 1365
- /92/ Taga, T., Sumiya, S., Osaki, K., Utamura, T., Koizumi, K. (1981)
Acta Cryst. B37, 963
- /93/ Hirotsu, K., Shimada, A. (1974)
Bull. Chem. Soc. Jpn. 47, 1872
- /94/ Ramakrishnan, C., Prasad, N. (1972)
Biochim. Biophys. Acta 261, 123
- /95/ Gardner, K.H., Blackwell, J. (1975)
Biopolymers 14, 1581
- /96/ Mo, F. (1979)
Acta Chem. Scand. A33, 207
- /97/ Mo, F., Jensen, L.H. (1978), Acta Cryst. B34, 1562

- /98/ Longchambon , F., Ohanessian, J., Gillier-Pandraud, H.,
Duchet, D., Jacquinet, J.C., Sinay, P. (1981)
Acta Cryst. B37, 601
- /99/ Rihs, G., Traxler, P. (1981)
Helv. Chim. Acta 64, 1533
- /100/ Go, K., Kartha, G., Chen, J.P. (1979)
Cryst. Struct. Commun. 8, 149
- /101/ Go, K., Kartha, G., Chen, J.P. (1980)
Acta Cryst. B36, 1811
- /102/ Go, K., Kartha, G. (1980)
Acta Cryst. B36, 3034
- /103/ Moran, R.A., Richards, G.F. (1973)
Acta Cryst. B29, 2770
- /104/ Leung, P., Marchessault, R.H. (1973)
Can. J. Chem. 51, 1215
- /105/ Go, K., Kartha, G. (1982)
Cryst. Struct. Commun. 11, 285
- /106/ Dunfield, L.G., Burgess, A.W., Scheraga, H.A. (1978)
J. Phys. Chem. 82, 2609
- /107/ Taga, T., Osaki, K. (1975)
Bull. Chem. Soc. Japan 48, 3250
- /108/ Johnson, L.N. (1966)
Acta Cryst. 21, 885

- /109/ Mo, F., Jensen, L.H. (1975)
Acta Cryst. B31, 2867
- /110/ Knox, J.R., Murthy, N.S. (1974)
Acta Cryst. B30, 365
- /111/ Gilardi, R.D., Flippen, J.L. (1974)
Acta Cryst. B30, 2931
- /112/ Neuman, A., Gillier-Pandraud, H., Langchambon, F.,
Rabinovich, D. (1975)
Acta Cryst. B31, 474
- /113/ Brehm, L., Moulton, J. (1975)
Proc. R. Soc. London B188, 425
- /114/ Delbaere, L.T.J. (1974)
Biochem. J. 143, 197
- /115/ Ohanessian, J., Avenel, D., Neuman, A., Gillier-Pandraud, H. (1980)
Carbohydr. Res. 80, 1.
- /116/ Luger, P., Vangehr, K., Bock, K., Paulsen, H. (1983)
Carbohydr. Res. 117, 23
- /117/ Virudachalam, R., Rao, V.S.R. (1979)
Biopolymers 18, 571
- /118/ Rees, D., Scott, W.E. (1971)
J. Chem. Soc. B, 469
- /119/ Carlström, D. (1962)
Biochim. Biophys. Acta 59, 361

- /120/ Neuman, A., Gillier-Pandraud, H., Longchambon, F. (1975)
Acta Cryst. B31, 2628
- /121/ Minke, R., Blackwell, J. (1978)
J. Mol. Biol. 120, 167
- /122/ Burge, R.E., Adams, R., Balyuzi, H.H.M., Reaveley, D.A. (1977)
J. Mol. Biol. 117, 955
- /123/ Naumann, D., Barnickel, G., Bradaczek, H., Labischinski, H.,
Giesbrecht, P. (1982)
Eur. J. Biochem. 125, 505
- /124/ Labischinski, H., Barnickel, G., Naumann, D. (1983)
in "The Target of Penicillin" (Hakenbeck, R., Höltje, J.-V.,
Labischinski, H., eds.), S. 49, de Gruyter Verlag
Berlin, New York
- /125/ IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature (1971)
Eur. J. Biochem. 21, 455
- /126/ Flippen, J., Gilardi, R.D. (1974)
Acta Cryst. B30, 537
- /127/ Delucas, L., Bugg, C.E., Terzis, A., Rivest, R. (1975)
Carbohydr. Res. 41, 19
- /128/ Gould, S.E.B., Gould, R.O., Rees, D.A., Scott, W.E. (1975)
J. Chem. Soc. Perkin II, 237
- /129/ Thanomkul, S., Hjortas, J.A., Sorum, H. (1976)
Acta Cryst. B32, 920
- /130/ Swaminathan, P., McAlister, J., Sundaralingam, H. (1980)
Acta Cryst. B36, 878

- /131/ Gurr, G.E. (1963)
Acta Cryst. 16, 690
- /132/ Doherty, R.M., Stewart, J.M., Benson, W.R., Maienthal, M.M. (1978)
Am. Cryst. Assoc. Ser. 2,6,29
- /133/ Nimigirawath, K., James, V.J., Stevens, J.D. (1975)
Cryst. Struct. Commun. 4, 617
- /134/ Weeks, C.M., Rohrer, D.C., Duax, W.L. (1976)
J. Steroid Biochem. 7, 545
- /135/ Delucas, L., Gartland, G.L., Bugg, C.E. (1978)
Carbohydr. Res. 62, 213
- /136/ Gould, S.E.B., Gould, R.O., Rees, D.A., Wight, A.W. (1976)
J. Chem. Soc. Perkin II, 392
- /137/ Hjortas, J., Larsen, B., Mo, F., Thanomkul, S. (1974)
Acta Chem. Scand. Ser. B 28, 133
- /138/ Wawra, H. (1974)
Z. Naturforsch. 29c, 317
- /139/ O'Connel, A.M. (1973)
Acta Cryst. B29, 2320
- /140/ Hvoslef, J., Bergen, B. (1975)
Acta Cryst. B31, 697
- /141/ Flippen, J.L. (1973)
Acta Cryst. B29, 1881
- /142/ Mazid, M.A., Palmer, R.A., Balchin, A.A. (1976)
Acta Cryst. B32, 885

/143/ Kandler, O. (1979)

Arch. Microbiol. 123, 295

Die vorliegende Arbeit entstand am Institut für Kristallographie der Freien Universität Berlin und wurde von Herrn Prof. Dr. H. Bradaczek betreut. Ihm danke ich für die stete Unterstützung der Arbeit und sein unablässiges Bemühen, die Arbeit durch Diskussionen zu fördern und voranzutreiben.

Teilen der Arbeit liegen Publikationen zugrunde, die in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. P. Giesbrecht am Robert-Koch-Institut des Bundesgesundheitsamtes angefertigt wurden. Herrn Prof. Dr. P. Giesbrecht und Herrn Dr. H. Labischinski danke ich für zahlreiche Anregungen und Diskussionen.

Herrn Dr. G. Barnickel danke ich für seine Anteilnahme an dieser Arbeit und die Erlaubnis zur Benutzung des Programmsystems CPECM.

Ein besonders herzlicher Dank gebührt Frau H. Bombosch, deren technische Unterstützung essentiell zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Allen Mitarbeitern des Instituts für Kristallographie gilt mein Dank für die erhaltene Unterstützung.

LEBENS LAUF

Am 4.5.1954 wurde ich, Bernd Leps, als einziger Sohn des Horst Leps, Schaffner, und seiner Ehefrau Gerda, geb. Schumann, medizinisch-technische Assistentin, in Berlin geboren. Ich verbrachte auch meine Kindheit in Berlin und trat am 6.4.1961 in die Teltow-Grundschule in Berlin-Schöneberg ein. Mit der fünften Schulklasse wechselte ich auf das Goethe-Gymnasium in Berlin-Wilmersdorf über, an dem ich am 3.12.1973 die Reifeprüfung bestand.

Seit dem Sommersemester 1974 studierte ich an der FU Berlin Chemie mit dem Studienziel Diplomchemiker und dem Nebenfach Mineralogie.

Seit dem 1.10.1978 hatte ich eine Tutorenstelle am Institut für Kristallographie inne.

Am 30.6.1980 legte ich das Diplom in Chemie an der FU Berlin mit der Note 'mit Auszeichnung' ab.

Seit dem 1.7.1980 war ich als wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Kristallographie der FU tätig. In dieser Zeit gehörte ich der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Bradaczek an.

